


Determinación de la seroconversión inducida por dos tratamientos contra parvovirus porcino e identificación del parvovirus porcino 4 en cerdas con signología reproductiva



José de la Luz Luevano Adame ^a

Francisco Ernesto Martínez Castañeda ^b

Rosa Elena Sarmiento Silva ^c

Concepción Díaz Rayo ^d

Fernando Gonzáles Peraza ^d

Ramón Miguel Molina Barrios ^e

Lourdes Estefany Soto Enríquez ^e

Raquel Elena Martínez López ^e

Erika N Hernández Villegas ^c

Elemi García Hernández Montserrat ^c

Rolando Beltrán Figueroa ^f

María Elena Trujillo Ortega ^{f*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Posgrado en Ciencias de la Producción y Salud Animal, Ciudad de México, México.

^b Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. Estado de México, México.

^c Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Microbiología. Ciudad de México. México.

^d Diagnósticos integrales en patología animal A.C. Ciudad Obregón, Sonora. México.

^e Instituto Tecnológico de Sonora. Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Ciudad Obregón, Sonora. México.

^f Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos. Ciudad de México. México.

* Autor de correspondencia: elenam@unam.mx

Resumen:

El parvovirus porcino causa fetos momificados y muerte fetal. Los programas de inmunización se basan en: vacunas comerciales y el *feedback* (administración oral de un macerado de fetos momificados por parvovirus). En el presente estudio evaluó la seroconversión de estos dos métodos, en una granja en Sonora, México, con problemas reproductivos. Las cerdas de reemplazo se dividen en: T1, *feedback* a las 24 semanas de edad y T2, vacuna comercial (parvovirus porcino), a las 24 y 27 semanas de edad. Las cerdas multíparas: T3, *feedback* al destete y T4, vacuna comercial dos semanas antes del parto. Se tomaron muestras de suero la semana previa a la administración de los tratamientos (T0) y tres semanas después, para evaluar la respuesta inmune. Los T1, T2, T3 y T4 seroconvirtieron 90, 83,78 y 50 % respectivamente. La presencia del genoma de parvovirus porcino, se analizó por PCR en punto final, utilizando indicadores específicos (genotipos 1 al 6) con la presencia de Parvovirus porcino 4, en muestras de T1, T2 y T4, las cuales se analizan por secuenciación de siguiente generación y se confirma parvovirus porcino 4, además de la identificación de otros virus, bacterias, hongos y parásitos. La presencia de parvovirus porcino 4, resalta la importancia de evaluar los programas de medicina preventiva, bajo las condiciones específicas de cada granja, para optimizar la prevención de cuadros reproductivos, ya que las vacunas comerciales pueden no ser efectivas y el tratamiento de *feedback* puede favorecer la diseminación de otros patógenos que se encuentren presentes en la granja.

Palabras clave: Vacuna, *Feedback*, Parvovirus porcino, Parvovirus 4, Estrategias de control.

Recibido: 11/10/2024

Aceptado: 22/04/2025

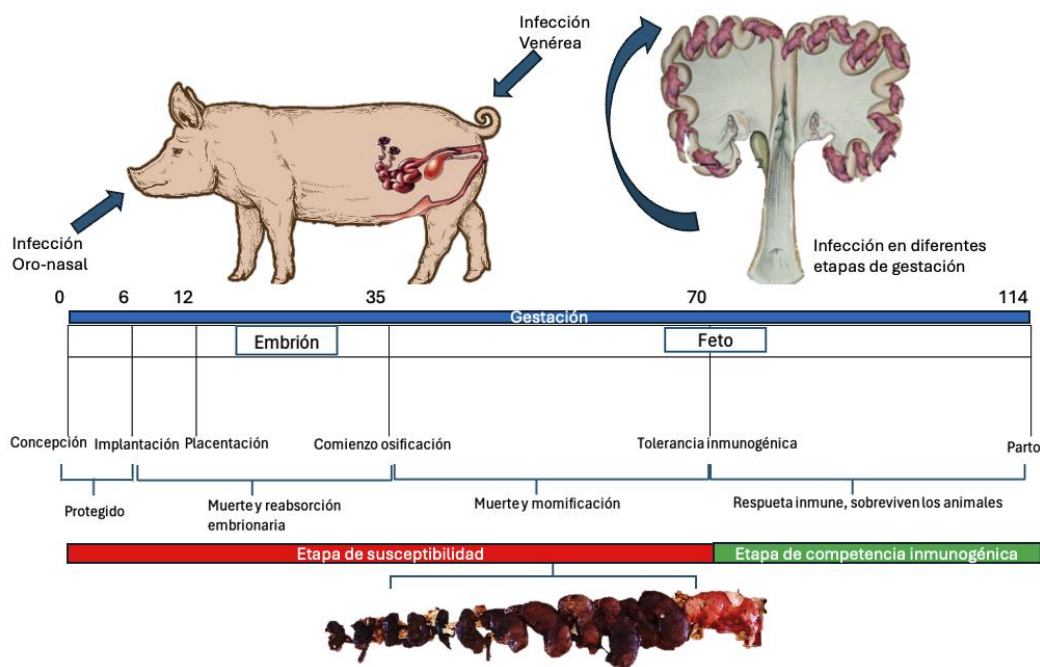
Introducción

El parvovirus porcino (PPV, por sus siglas en inglés) de importancia dentro del hato reproductor, pertenece al grupo SMEDI, (por sus siglas en inglés)^(1,2) debido a los signos que presentan: lechones nacidos muertos, momificados e infertilidad en las cerdas^(3,4). El PPV es

estable en el ambiente y es ubicuo en cerdos^(5,6), por lo que es importante el desarrollo de un correcto programa de inmunización contra éste^(7,8,9).

El desarrollo de la enfermedad clínica en animales se limita a las cerdas que están en etapa reproductiva, si la infección se lleva a cabo durante la primera mitad de la gestación puede ocurrir la muerte del embrión o del feto seguido de reabsorción embrionaria, o momificación fetal. Si la transmisión ocurre después de la primera mitad de la gestación, los fetos pueden sobrevivir en el útero sin efectos clínicos (Figura 1)⁽¹⁰⁾.

Figura 1: Línea de tiempo de la infección por VPP durante la gestación. Modificada de Mészáros⁽¹⁰⁾



Los programas de inmunización que se emplean en las granjas porcinas se basan en dos principales métodos, el primero consiste en el uso de vacunas comerciales (en México, únicamente se emplean vacunas inactivadas), que pueden ir solas o acompañadas con agentes bacterianos como *Erysipelothrix rhusopathiae* y *Leptospira spp.* El segundo método es la administración oral de materia fecal, momias y placenta, trituradas (*feedback*), a las cerdas de reemplazo^(4,7,11,12,), este último presenta el riesgo de diseminar otros patógenos existentes en la granja^(4,11), además debido a que no se determina la concentración o carga viral del inóculo, es posible que no haya inducción de una respuesta inmune adecuada⁽¹³⁾.

El parvovirus porcino, presenta varios genotipos estos pueden afectar la epidemiología de la enfermedad y su control en las explotaciones porcinas. La vigilancia y el manejo adecuado son cruciales para prevenir brotes y minimizar el impacto en la producción porcina. En los

continentes, europeo y asiático se reporta la circulación de los genotipos 1 al 7 del PPV^(8,14,15,16), en América del norte se han reportado los genotipos 1, 2, 5 y 6 del PPV^(17,18). También se ha demostrado que puede haber coinfecciones con diferentes genotipos del PPV^(19,20). Estudios referentes a la vacunación contra PPV, muestran que hay seroconversión, pero no es homogénea, ya que puede haber sub-poblaciones susceptibles⁽²⁾. En México, los estudios epidemiológicos se limitan a la detección de anticuerpos específicos contra el PPV. Recientemente, García-Camacho, *et al*⁽²¹⁾, reportaron la presencia de diferentes genotipos de PPV, en diferentes estados de la república mexicana, pero no hay reportes que asocian la presencia de estos con signología reproductiva.

El objetivo de este trabajo fue determinar la seroconversión inducida por dos tratamientos (*feedback* y una vacuna comercial) contra parvovirus e identificar el genotipo circulante en cerdas primerizas en el área de adaptación y en cerdas multíparas.

Material y métodos

Historia de la granja

La granja porcina evaluada se encuentra en el noroeste de México (Ciudad Obregón, Sonora), la cual cuenta con un inventario 3,000 cerdas de pie de cría de genética Pig Improvement Company (PIC), con estatus sanitario, negativo a PRRSV (por sus siglas en inglés) Síndrome Reproductivo y Respiratorio Virus) y *Mycoplasma hyopneumoniae* y positivo a influenza porcina. El programa sanitario de la granja incluye la aplicación de una bacterina frente a *Salmonella* spp a las dos semanas de edad (Enterisol SC Boehringer Ingelheim®), dos aplicaciones frente a circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) (Circumvent PCV2- MSD®) a las tres y seis semanas de edad; dos administraciones de una vacuna contra ileitis (*Lawsonia intracellularis* (Porcilis Ileitis MSD®) a las 8 y 20 semanas de edad. Para parvovirus porcino, el programa sanitario se realiza mediante dos tratamientos (una exposición controlada *feedback* y la administración de una vacuna comercial) a cerdas de reemplazo y multíparas. En el año de 2020, el comportamiento reproductivo fue afectado principalmente por el incremento de lechones nacidos momificados 11.12 % y nacidos muertos (4.46 %), la disminución en la tasa de concepción en un 13 % de 93 a 80 % y en la fertilidad al parto de 88 % hasta 65 % en la etapa más crítica. El protocolo de manejo y tratamientos realizados en este trabajo fue aprobado por el Subcomité del Cuidado y su uso de animales experimentales (SICUE) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM (MC-2019/3-10).

Tratamientos

El presente estudio se realizó en dos escenarios diferentes: en el primero, se evaluó a las cerdas de reemplazo y el segundo a las multíparas. No se evaluaron en conjunto, ya que las

cerdas de reemplazo están en la unidad de desarrollo genético (GDU, por sus siglas en inglés) hasta antes de su incorporación a la línea de producción.

Se utilizaron dos protocolos de inmunización contra parvovirus porcino, *feedback* y vacuna (Farrowsure B ® Zoetis) la cual contiene parvovirus porcino-1 cepa apatógena tipo NADL-7 (PPV). En la elaboración de *feedback* se utilizaron momias licuadas no mayores a 16 cm de longitud (provenientes de cerdas jóvenes 1-2 partos), las cuales se maceraron con agua purificada, en presencia de antibióticos (estreptomina 1.25 mg) y se congeló en tubos de 50 ml hasta su uso, el macerado se analizó para descartar la presencia de PRRSV por PCR.

Los tratamientos realizados fueron: El tratamiento 1 (T1), consistió en una sola administración de 20 ml de *feedback* a las 24 semanas de edad a 30 cerdas de reemplazo. El tratamiento 2 (T2), consistió en la administración de 2 ml de la vacuna (Farrowsure B ® Zoetis) a las 24 semanas de edad a 30 cerdas de reemplazo, con una segunda aplicación a la semana 27 de edad. El tratamiento 3 (T3), consistió en la administración de 20 ml de *feedback* a 80 cerdas multíparas, al momento del destete. El tratamiento 4 (T4), consistió en la administración de 2 ml de la vacuna (Farrowsure B ® Zoetis), a 80 cerdas multíparas, dos semanas antes del parto.

Determinación de anticuerpos

Se recolectaron muestras de suero para la determinación de anticuerpos por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH) mediante el método Beta, utilizando eritrocitos de cobayo al 0.5 % y Parvovirus vacunal (Synparv, cepa NADL-8 Syva ®) ajustado a 4 unidades hemoaglutinates (UHA), para los T1, T2, T3 y T4. El criterio de positividad se estableció de un valor 1:480 (2.68 log₁₀), de acuerdo con lo reportado por Cobos *et al*⁽²²⁾. Para los tratamientos T1 y T2 se tomaron muestras de suero en intervalos de 3 semanas cada uno (24, 27 y 30 semanas de edad). En el caso de los tratamientos T3 y T4, se tomaron muestras al destete.

Análisis estadístico

La seroconversión en las cerdas de reemplazo se analizó mediante estadística descriptiva. El efecto de los tratamientos T1 y T2 se comparó utilizando la prueba de supervivencia de Kaplan-Meier y con la prueba de log-rank de Mantel-Cox con una significancia de $P < 0.05$ ^(23,24). El análisis de los tratamientos T3 y T4, de las cerdas multíparas, se realizó mediante un modelo de efectos mixtos, los resultados se expresaron en Log₁₀. El efecto fijo fue el tratamiento, el parto se evaluó como un efecto aleatorio ya que este fue una condición propia del animal que no fue considerada para la selección de las unidades experimentales^(25,26).

Modelo de efectos mixtos utilizado para la evaluación de los tratamientos:

$$Y_{ijk} = \mu + \delta_{(i(j))} + \tau_j + [(\tau P)]_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ijk}** es la respuesta en log¹⁰ en el i-ésimo individuo en el j-ésimo parto en el k-ésimo trat;
- μ** es la media general;
- δ_{i(j)}** es el efecto aleatorio asociado al i-ésimo individuo en el j-ésimo parto;
- τ_i** es el efecto del k-ésimo tratamiento;
- (δτ) _{jk}** es la interacción del j-ésimo parto en el k-ésimo tratamiento.

Todos los análisis se realizaron con el programa SAS OnDemand for Academics (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) con el procedimiento (PROC) MIXED.

Prueba de PCR

Los sueros positivos por IH fueron agrupados en pools de cinco sueros (se analizaron 31 pools), se realizó la extracción del ADN por medio del sistema de extracción automatizado para ADN/ARN Taco™ (GeneReach Biotechnology, Taiwan), la metodología de extracción se llevó a cabo siguiendo las indicaciones del fabricante. Para detectar la presencia de los genotipos 1-6 de PPV, se usaron primers para cada genotipo previamente reportados (Cuadro 1)⁽²¹⁾.

Cuadro 1: Primers empleados para la amplificación de parvovirus porcino

Primers	Secuencia 5'3'	T° de alineamiento	Tamaño (pb)	Posición Genbank/número de acceso
PPV1-F PPV1-R	CACACCAGCAGCACCTAGAA TCCTACCTGAGCTGGCCTAA	60°C	454	3364-3817/U44978a
PPV2-F PPV2-R	AACCACGCCAAATCAAAGTC TAACAGACCCGTCCATTTC	60°C	413	4015-4427/EU200677 ^a
PPV3-F PPV3-R	ATTGTGCGCATTAAATATACCA TGGTCCCAAGCAATAGGAT	57°C	578	3590-4167/GU938300 ^a
PPV4-F PPV4-R	TAGCACTATGGCGAGCAAA AAGCAAGCAGTGTAGCAGAGTT	59°C	675	3800-4474/NC014665 ^a
PPV5-F PPV5-R	TTTGGGCGCCATATATTGAT ATGCGGAAAAGAGCTAAGCA	58°C	521	3363-3883/JX896318
PPV6-F PPV6-R	ATTCCCAACAGACAGACAGAA TTAGGTCCGAAGGCATCAT	58°C	550	3791-4340/KR709268

PPVs= parvoviruses. ^aICTV secuencia de referencia.

Para la amplificación se realizó la prueba de PCR con una reacción ajustada a 25 μl utilizando los primers a una concentración de 25 μM, en la reacción se utilizó una mezcla maestra Taq

PCR Master mix Qiagen® (conteniendo 5 U Taq DNA polimerasa, el buffer 1X cloruro de magnesio 25µM, 10 µM de cada dinucleótidos trifosfato (dNTP), 0.5µM de cada primer y 25 ng de DNA de templado) y fueron amplificados en un termociclador C1000 Touch Thermal Cycler, BIO-RAD™ bajo las siguientes condiciones de reacción: 94 °C por 3 min, 35 ciclos a 94 °C durante 1 min, como temperatura de alineamiento, se emplearon 60 °C para PPV1 y PPV2, 57 °C para PPV3, 59 °C para PPV4 y 58 °C para PPV 5 y PPV6 y 72 °C de elongación durante 1 min, así como una extensión final de 72 °C durante 10 min. El producto amplificado de PCR fue separado por electroforesis capilar horizontal con gel de agarosa al 1.5 % para la visualización de los fragmentos.

Secuenciación metagenómica

Las muestras positivas a parvovirus por PCR punto final se analizaron mediante secuenciación de siguiente generación (Shot gun), la cual se realizó en la Unidad de Secuenciación del Instituto de Biotecnología, UNAM. Para la construcción de las bibliotecas genómicas, se cuantificó la concentración del material genético extraído de las muestras, mediante el espectrofotómetro de microvolumen Genova Nano 737,501, Jenway, Staffordshire, Reino Unido. Posteriormente se utilizó el Kit de Preparación de Biblioteca de ADN (Nextera XT.) utilizando 5 µl de ADN. La secuenciación se realizó en la plataforma Illumina NextSeq 2 x 75, con una profundidad de 1 millón de lecturas. La calidad de las secuencias crudas fue evaluada con el programa FASTQC (Babraham Bioinformatics, Reino Unido), la eliminación de adaptadores se realizó con Cutadapt v1.11. Así mismo, las lecturas limpias se filtraron inicialmente utilizando el software de alineación Bowtie2 contra el genoma de referencia de *Sus scrofa* (GCF_000003025.6) para retirar el genoma del hospedero.

Las secuencias filtradas se ensamblaron mediante el programa SPADES, así mismo el análisis de los ensamblajes se realizó con Kraken2. Además, se realizaron alineamientos para la búsqueda específica de lecturas compatibles con parvovirus porcino (Porcine parvovirus 4 isolate PPV4/COL/Valle575/2021, complete genoma), utilizando el programa Bowtie2 (bowtie2 --no-unal --sensitive-local).

Resultados

Los resultados de seroconversión para el T1 (*feedback*) en las semanas de edad 24, 27 y 30, seroconvirtieron el 23.2, 63.3 y 90 % respectivamente, mientras que el grupo T2 (vacuna), la seroconversión fue de 33.3, 53.3 y 83.3%, respectivamente (Cuadro 2). El análisis comparativo realizado entre los dos tratamientos, T1 y T2, mediante la prueba de supervivencia de Kaplan-Meier no mostró diferencia significativa ($P>0.05$).

Los resultados de seroconversión obtenidos para los tratamientos realizados en las hembras multíparas, T3 y T4, mostraron una seroconversión del 78.7 % de las cerdas ($P<0.05$) con el T3, mientras que para el T4 sólo el 50 % de las cerdas mostraron seroconversión ($P<0.05$).

Cuadro 2: Porcentaje de cerdas de seroconversión de T1, T2, T3, T4 por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación

Tratamiento	T1 (<i>Feedback</i>)			T2 (vacuna)			T3	T4
	n=30/edad			n=30/edad			n=80	n=80
Edad en semanas	24	27	30	24	27	30	Multíparas	Multíparas
Positivos	7	19	27	10	16	25	63	40
Negativos	23	11	3	20	14	5	17	40
% seroconversión	23.3	63.3	90	33.3	53.3	83.3	78.7	50

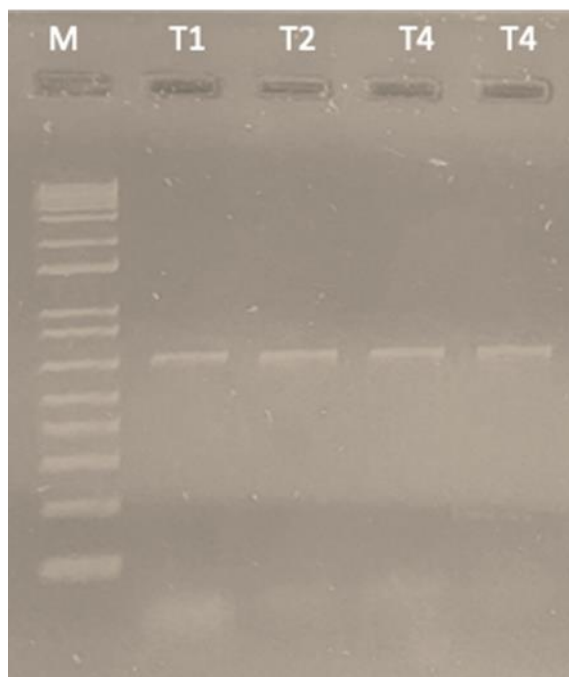
Los resultados obtenidos mostraron efecto significativo en T3 por número de parto ($P<0.0292$). El análisis de la seroconversión por número de parto y no por tratamiento no fue estadísticamente significativo ($P>0.05$) (Cuadro 3).

Cuadro 3: Cerdas seropositivas por prueba de inhibición de la hemoaglutinación, por tratamiento (T3 y T4) y número de parto en cerdas multíparas

Título IH	<i>Feedback</i> T3						Vacuna T4					
	Número de parto						Número de parto					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1:60	1	-	-	-	-	-	6	3	3	1	-	-
1:120	1	-	2	1	-	-	4	3	2	4	1	2
1:240	3	5	3	1	-	-	2	3	-	2	4	-
1:480	4	5	2	2	3	2	-	1	-	1	1	-
1:960	3	5	2	2	2	2	-	2	3	1	2	-
1:3840	4	2	-	3	3	1	3	6	2	-	1	-
1:7680	4	3	3	2	2	2	5	1	3	2	4	2

Título positivo a partir de 1:480; - = sin muestra.

En la Figura 2, se muestra el resultado de PCR de los sueros analizados que fueron positivos a parvovirus porcino por medio de IH, de los cuatro tratamientos. De las cuales se corroboran por PCR cuatro muestras positivas de parvovirus porcino tipo 4, en los tratamientos T1, T2, T4 (dos positivas) lo que representa 9.67 %.

Figura 2: Productos de amplificación de parvovirus 4

Carril 1 M= 1000kb. carril 2 muestra positiva (fragmento de 675 pb) obtenida del tratamiento 1, carril tres muestras positivas del tratamiento dos y carriles cuatro y cinco muestras positivas del tratamiento 4.

Resultados de metagenómica

De las muestras secuenciadas se obtuvo un total de 2,199 millones de lecturas para la muestra analizada del tratamiento T1, de las cuales el 0.04 % correspondieron a genomas virales, y 0.04 % a genomas bacterianos; 2,145 millones para el tratamiento T2, de las cuales el 0.4 % correspondieron a genomas virales, y 0.5 % a genomas bacterianos, 21,938 millones para el tratamiento T3, de las cuales el 0.03 % correspondieron a genomas virales, y 0.01 % a genomas bacterianos y 12,379 millones para el tratamiento T4, de las cuales el 0.1 % correspondieron a genomas virales, y 0.008 % a genomas bacterianos. La presencia de bacterias reportadas incluye microorganismos ambientales que pueden estar asociados con las diferentes etapas de producción en los cerdos, así como revelar el desarrollo inicial del microbioma; esta etapa es crucial, ya que el microbioma temprano está relacionado con el desarrollo del sistema inmunológico, la maduración de órganos y la salud general de los animales, y la presencia de patógenos asociados a problemas reproductivos en las cerdas.

En el Cuadro 4 se resume las especies de virus y bacterias identificados mediante secuenciación y su importancia en las granjas, algunas de ellas como se ha mencionado están relacionadas con bacterias ambientales, como *Diaphorobacter sp.*

Cuadro 4: Microorganismos encontrados por metagenómica

Microorganismo	Importancia	Referencias
<i>Clostridium botulinum</i>	Es raro en cerdos, la infección provoca incoordinación, parálisis motora, anorexia y muerte. Se asocia a alimento contaminado o alimentación con dietas no convencionales (desechos), es de importancia en salud pública.	(27)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Está involucrado en lesiones en piel, así como, causante de septicemia, mastitis, vaginitis, metritis, osteomielitis y endocarditis, es de importancia en salud pública.	(28)
<i>Cupriavidus neocaledonicus</i>	Microorganismo capaz de crecer en suelos ricos en metales pesados, no se reportan asociaciones con enfermedades en humanos o animales.	(29)
<i>Comamonas testosteroni</i>	Se considera una bacteria comensal, sin embargo, se ha reportado en humanos con procesos septicémicos.	(30)
<i>Haloterrigena sp.</i>	Bacterias que se encuentran en ambientes desérticos, no hay reportes o asociaciones con enfermedades en animales y humanos.	(31)
<i>Diaphorobacter sp.</i>	Bacterias que se pueden ser aisladas en lodo, forma parte de la microbiota intestinal, se ha encontrado frecuentemente en humanos con cáncer, no se tienen reportes en animales domésticos.	(32,33)
<i>Malassezia restricta</i>	Asociado a enfermedades cutáneas, otitis en animales y humanos, no se tiene documentado en cerdos.	(30,34)
<i>Leishmania mexicana</i>	Provoca enfermedad cutánea, es de importancia en salud pública. La leishmaniasis puede ser catalogada como enfermedad ocupacional donde veterinarios y trabajadores en el sector agrícola y animal son mayormente afectados.	(35)
<i>Gamaretrovirus porcino C</i>	El oncovirus porcino tipo c es un virus endógeno, tiene gran relevancia sobre todo en animales que son destinados para xenotrasplantes, ya que puede infectar células humanas y representa un riesgo de infección a humanos con retrovirus.	(36,37)
<i>Parvovirus porcino 4</i>	Virus que afecta a cerdos, no se ha reportado en investigaciones asociación con enfermedad, sin embargo, se menciona que puede estar implicado en coinfecciones con otros agentes virales.	(38,39)

Identificación de parvovirus porcino 4

Con base en los resultados de los análisis de las muestras por PCR, las secuencias obtenidas también se analizaron para identificar el genoma del parvovirus porcino tipo 4. Se utilizó el genoma de referencia de PVP4 OR359295.1 Porcine parvovirus 4 isolate PPV4/COL/Valle575/2021 y se alinearon las secuencias para mapear el genoma de

referencia bajo. Los contigs recuperados que se alinearon con la referencia fueron analizados mediante la herramienta Blastn del NCBI para comprobar su identidad con secuencias de PVP4.

De las cuatro muestras analizadas en dos de ellas se identificaron secuencias correspondientes al PVP4. En la muestra T1 (tratamiento *feedback* a las 24 semanas de edad en cerdas de reemplazo), se obtuvieron 9 contigs que se alinearon a lo largo del genoma de referencia, de las cuales seis fueron concordantes. Estas secuencias identificadas tienen un 96 % de cobertura y un 100 % de identidad con muestras reportadas en China en 2017 (Cuadro 5). Así mismo, la muestra T4 (Cuadro 6) se obtuvieron 8 lecturas que se alinearon a lo largo del genoma de referencia, todas concordantes. Estas secuencias identificadas tienen entre un 40 y 80 % de cobertura y un 100% de identidad con muestras reportadas en China entre 2017 y 2022 y la cepa KY586146 reportada en Brasil en 2008.

Cuadro 5: Contigs recuperados correspondientes con PVP 4, de la muestra del tratamiento T1

Lectura	Posición genoma	Secuencia
R1	480	GTGTATAAGAGACAGGAGCAGAACTCCGTCGTTTTCG GCCTGTATTTGAAGATGGA
R2	460	CGGCCTGTATTTGAAGATGGAAACCTACTGGACAGGT ATTTCTGTCTCTTATACAC
R2	2456	CGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTATT ATACCGATACTAACATGGG
R1	2940	GATTCTGATGACACCAGTAAAGAAAAATTCTATGCAT TTATGGAAAAAATTCAGC
R2	2838	GAAGCTCCTGTTACAGCAGTTCCGGTTGAGACATCACC AACTGAAAAACAGGTAC
R1	4636	AAGATTTAAAGACGGTGATTATTCAATAACAGGTCCA GGAGATAGAGATAAAACA
R2	4726	CACCAGAGATACCTATCTCTTCTCCAGCGATTTAGCTA AAACTGAAAGAGAACAGC
R1	5280	GCGCCTGCAGCGGATCCATTCCAAGTAATACATATTTG AACCAATATTGCCAATTT
R2	5259	CAAGTAATACATATTTGAACCAATATTGCCAATTTTTG CTTACATATGAAATGGAA

Cuadro 6: Contigs recuperados correspondientes con PVP 4, de la muestra del tratamiento T4

Lectura	Posición genoma	Secuencia
R1	339	GCATGATTTATGCAAAGAGGAAGTTAACCTGATTGGTCAGTT TTTTTGGCGGGA
R2	279	TTGATTGGACGGGA ACTCAAGTCCTAATTTGAATTGACGTGG ACCAATCAGAATC
R2	1062	TAAGCTTCTTTGTGCCCCATAAGAATAAACACGGGGCCTGGA AGAGCACGGACG
R1	946	CACCATCGGTGGAGCCATCGGTGATGCTTGCCTAAATACTGA TAAGAGAAAGGAGT
R2	1245	AGGAGTTGCTGGATAATAGACAGGACCCAGCGGTGATCGAA GAGCTCTCAGCTCCC
R1	1112	CAGATGGGAAAATAAGATTGCTCTAAGTCTATACTCGTTTCT GGCCACCCAGGCAG
R2	4189	TTTAATACACCATGGTACTATTATGATCTAACATTATGTCCT GCCATTTCTCTCC
R1	3911	ACCGGGACAACCATATCAACTACCAAATACTCATAACAGAA CTGTTGGAAAA

Los resultados del análisis de Blastn de los contigs obtenidos de las muestras T1 y T4 se muestran en el Cuadro 7, se incluye el porcentaje de identidad y la cobertura.

Discusión

El parvovirus porcino (PPV) es un patógeno crucial en la producción porcina, su ubicuidad en cerdos subraya la necesidad de estrategias preventivas efectivas, como la vacunación y el uso de métodos de exposición como el *feedback*^(4,13). Recientemente, se han identificado siete genotipos de PPV en diferentes regiones, con signología reproductiva^(21,40-43).

Diversos estudios proporcionan una visión integral sobre la seroconversión y la respuesta inmune frente al parvovirus porcino tipo 1 (PPV1) en cerdas de reemplazo y sus implicaciones reproductivas^(6,44), sin embargo, poco se ha descrito sobre los otros genotipos de parvovirus porcino. Luevano *et al*⁽⁴⁵⁾ observaron que los anticuerpos contra el PPV1 en cerdas jóvenes pueden persistir hasta las 20 semanas de edad; este hallazgo sugiere que los anticuerpos detectados en el presente trabajo en el primer muestreo a las 24 semanas, podrían ser de origen materno y un factor crítico a considerar cuando se interpreta la respuesta inmune en cerdas primerizas. La presencia prolongada de anticuerpos maternos puede interferir con la eficacia de la vacunación, y debe tenerse en cuenta al planificar los calendarios de vacunación y muestreo^(45,46), también puede explicar la respuesta heterogénea en las cerdas vacunadas, tanto en la positividad reportada como en los títulos de anticuerpos.

Como se ha mencionado existen vacunas comerciales contra el parvovirus porcino 1, éstas han sido evaluadas por diversos grupos, Noguera *et al*⁽⁴⁷⁾, evaluaron tres vacunas comerciales contra PPV1, los porcentajes de seroconversión variaron entre 50 y 70 %, similar a lo obtenido en el presente estudio. En el presente trabajo los resultados obtenidos con el tratamiento convencional de *feedback* (T1), y con una vacuna comercial (T2), mostraron en las cerdas primerizas seropositividad del 90 y 83.3, respectivamente; este resultado concuerda con lo reportado por otros investigadores⁽⁴⁸⁾, quienes reportaron seroconversión del 70 % tras la vacunación con una vacuna comercial contra PPV1. Los resultados del presente trabajo indican una buena respuesta inmune inicial, pero también reflejan que el porcentaje de seroconversión puede no ser absoluto, similar a lo observado en otros estudios^(46,47), además, en esos estudios se observó que pese a la vacunación se presentaron de lechones momificados, lo que subraya la importancia de la elección adecuada de la vacuna y su potencial impacto en la salud reproductiva de las cerdas. En el presente estudio se encontró que en los grupos con vacunación (T2 y T4), se continuaron presentando lechones momificados, lo cual puede ser asociado a que el componente de la vacuna es el parvovirus genotipo 1, y no protege contra otros genotipos del parvovirus porcino.

El efecto del número de parto en las cerdas frente a la vacunación es un tema importante en la producción porcina, ya que influye en la eficacia de la inmunización y en la salud reproductiva del hato. Generalmente, las cerdas primerizas pueden tener una respuesta inmune más robusta debido a su falta de exposición previa a patógenos. Sin embargo, las cerdas multíparas, que han sido expuestas a múltiples ciclos reproductivos y potencialmente a más patógenos, éstas pueden tener una respuesta inmune menos predecible debido a la variabilidad en su historial de exposición y en su estado de salud general. Los resultados del presente estudio para los grupos T3 y T4, con seroconversiones del 78.7 % y 50 %, respectivamente, revelan que, a pesar de la vacunación, la seropositividad puede variar significativamente. Es particularmente notable que el grupo T3, con una alta seroconversión sin vacunación previa, sugiere una exposición previa al virus, mientras que en el grupo T4, a pesar de la vacunación continua, la mitad de los animales no mostró anticuerpos contra PPV1; cabe señalar que en los casos en que sí se encontraron anticuerpos por la técnica de inhibición de la hemaglutinación algunos de los títulos estos fueron altos (1:7680); esto podría indicar variabilidad en la respuesta inmune individual, el número de parto o problemas en la cobertura y administración de la vacuna. Los resultados de *feedback* concuerdan con lo reportado por Streck *et al*⁽⁴⁸⁾ quienes reportan una seropositividad del 84.7 % en cerdas de 4 partos o más, mientras que en paridades mayores disminuye.

No utilizar la vacuna adecuada para el genotipo específico del parvovirus porcino puede causar varios problemas en la producción porcina; si la vacuna utilizada no cubre el genotipo del virus prevalente en la granja, la respuesta inmune inducida puede ser insuficiente para proteger a las cerdas contra el virus. Esto puede resultar en una protección parcial o nula frente a la infección, comprometiendo la eficacia de la vacunación. Los estudios moleculares

han identificado varios genotipos de PPV, clasificados como PPV1, PPV2, PPV3, hasta PPV7, estos genotipos pueden tener variaciones en su capacidad para causar enfermedad y en su distribución geográfica. Con la finalidad de determinar el genotipo del parvovirus presente en la granja analizada en este estudio, se realizaron análisis mediante PCR en punto final para los genotipos 1-6, y los resultados mostraron muestras positivas para el genotipo 4. En México, se reportó la presencia de parvovirus 8 en coinfecciones con circovirus porcino 2⁽²¹⁾. Brown menciona que no ha sido posible asociarlo directamente con alguna enfermedad reproductiva en las granjas porcinas⁽²⁵⁾. Sin embargo, se ha mencionado que PPV4 puede tener implicaciones reproductivas⁽⁴⁹⁾.

En este trabajo se reporta por primera vez la presencia de parvovirus porcino 4, en granjas con problemas reproductivos. Además, las muestras positivas por PCR para el genotipo 4 de parvovirus porcino se analizaron mediante secuenciación de siguiente generación, que permite la secuenciación simultánea de millones de fragmentos de ADN en una sola ejecución, generando grandes volúmenes de datos y confirmando la presencia de parvovirus porcino 4 y de bacterias, hongos y parásitos. La secuenciación de siguiente generación se ha utilizado para caracterizar las comunidades microbianas en animales y humanos, así como entornos ambientales. Esta es una herramienta valiosa para detectar de manera no específica diversos microorganismos en muestras, ofreciendo ventajas únicas para la detección de patógenos emergentes, patógenos exigentes o no cultivables, e infecciones mixtas. En comparación con el cultivo bacteriano y las pruebas de PCR, la secuenciación metagenómica demuestra ventajas en la detección de bacterias difíciles de cultivar y virus menos comunes o que se encuentran en baja cantidad en las muestras. La composición de la comunidad microbiana es dinámica y puede desarrollarse a partir de complejas interacciones entre el hospedador y los factores ambientales externos, en donde las infecciones virales pueden modificar estas interacciones. Los resultados mostraron la presencia de *Clostridium botulinum*, *Cupriavidus neocaledonicus*, *Staphylococcus aureus*, *Diaphorobacter* sp, *Comamonas testosteroni*, *Haloterrigena* sp, *Malassezia restricta*, *Leishmania mexicana*, así como especies de origen vegetal como *Beta vulgaris*, *Solanum pennellii*, *Vitis vinifera*, *Telopea speciosissima*, *Solanum tenotomums*, *Zingiber officinale*, *Manihot esculenta*, *Vigna angularis*, *Physcomitrium patens* y *Gossypium raimondii*. También se reporta la presencia de virus de la familia gamaretrovirus porcino tipo C; los retrovirus endógenos porcinos (PERV) no están muy estudiados; son liberados por células porcinas normales y son infecciosos. Se han reportado los virus PERV-A, PERV-B y PERV-C, los virus A y B son virus politrópicos que infectan células de varias especies, incluidos los humanos, lo que los convierte en un riesgo para la xenotransplatación. PERV-C es un virus ecotrópico que solo infecta células porcinas. Se ha demostrado la infectividad de estos virus en experimentos de co-cultivo *in vitro*. En los últimos años, ha aumentado la evidencia de que los PERV, a diferencia de los retrovirus endógenos humanos (HERV), siguen activos *in vivo* en los cerdos. Mientras que los HERV se expresan como ARN mensajero, proteínas y partículas no infecciosas, los PERV siguen siendo activos en los cerdos. El número de copias de PRV en diferentes razas

de cerdos es variable. El significado biológico de la presencia de estos agentes en las muestras analizadas debe estudiarse en el entorno de las interacciones entre la microbiota y los patógenos (virus o bacterias).

El parvovirus porcino tipo 4 es un agente patógeno emergente; su presencia en cerdos podría tener como consecuencia la presencia de otras infecciones virales o bacterianas, lo que puede complicar los diagnósticos y el manejo de enfermedades, haciendo aún más importante la vigilancia y el estudio de este virus. Las consecuencias económicas debido a la reducción en la producción y los costos adicionales para el control y tratamiento de las infecciones, puede generar un problema serio a la producción porcina en México.

Conclusiones e implicaciones

Los métodos utilizados para la prevención de PPV como lo son el uso de vacunas comerciales o *feedback* son ampliamente utilizados en las unidades de producción porcina y depende de muchos factores como el estatus sanitario de la granja, los programas de inmunización y por lo tanto los anticuerpos maternos, lo anterior hace que su efectividad sea más difícil de evaluar, en cambio el uso de las vacunas con el esquema e inmunógeno adecuado ayudan a prevenir o controlar al virus; es importante mencionar que al momento ninguna vacuna contra el parvovirus porcino tiene como componente vacunal al PPV4. La variabilidad en la seroconversión y la incidencia de problemas reproductivos subraya la necesidad de una evaluación cuidadosa de los programas de vacunación y la adaptación de estrategias para asegurar una protección óptima y minimizar las pérdidas reproductivas. La identificación del PPV4, en granjas con signos reproductivos, subraya la necesidad de mejorar las estrategias de vigilancia, diagnóstico y control de enfermedades virales en cerdos. El PPV4 es relativamente nuevo en comparación con otros patógenos porcinos más conocidos, por lo que su estudio puede proporcionar información valiosa sobre la virología de los parvovirus porcinos, sus mecanismos de transmisión, cómo afecta a los cerdos y cómo se puede controlar, así como su posible interacción con otros virus o bacterias presentes en las granjas porcinas.

Agradecimientos

Se agradece a la DGAPA-UNAM, por el financiamiento del proyecto PAPIIT Detección y diversidad genética de parvovirus porcino IN216921, a los médicos veterinarios zootecnistas que dieron apoyo para la obtención de las granjas y datos para su análisis, así como al Instituto Tecnológico de Sonora, al Laboratorio de Diagnósticos Integrales en Patología Animal, por establecer el contacto con las unidades de producción. A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM). Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) y al programa de maestría

y doctorado en Ciencias de la Producción Animal por el apoyo económico durante este proyecto. Al MTI Juan Manuel Hurtado y al Dr. Gamaliel López Real por las facilidades brindadas para el uso del servidor y al Dr. Luis Lozano Aguirre Beltrán de la Unidad de Análisis Bioinformáticos (UAB) y la Unidad de Administración de Ti (UATi) del Centro de Ciencias Genómicas, UNAM.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés en la publicación de este documento.

Cuadro 7: Alineación de las secuencias obtenidas con las secuencias de referencia de PPV4

No. de acceso	País/año	Descripción	Nombre científico	Max score	Total score	Query cover	E value	% Ident	Acc. Len
MK092421.1	China, 2015	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4-DJH18, partial genome	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	5036
MK378290.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_TJ01_C2 capsid protein gene, partial cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	1482
MK378288.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_SX02_C2 capsid protein gene, partial cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	1355
MK378286.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_SX01_C1 replicase gene, partial cds; and ORF3 and capsid protein genes, complete cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	4835
MK378278.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_NX02_C1 replicase, ORF3, and capsid protein genes, complete cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	5174
MK378276.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_NM02_C1 replicase gene, partial cds; and ORF3 and capsid protein genes, complete cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	4835

MK378270.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_JL01_C1 replicase gene, partial cds; ORF3 gene, complete cds; and capsid protein gene, partial cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	4786
MK378269.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_HuN02_C1 replicase gene, partial cds; ORF3 gene, complete cds; and capsid protein gene, partial cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	4721
MK378268.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_HuN01_C1 replicase, ORF3, and capsid protein genes, complete cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	5500
MK378264.1	China, 2017	Porcine parvovirus 4 isolate PPV4_VIRES_HeN01_C1 replicase gene, partial cds; ORF3 gene, complete cds; and capsid protein gene, partial cds	Porcine parvovirus 4	104	104	96%	2.00E-18	100.00	4778

Acc. Len= Accession length.

Literatura citada:

1. Aishwarya J, Ravishankar C, Rajasekhar R, Sumod K, Bhaskar N, Shaji SJK, Mini M. First report of detection and molecular characterization of porcine parvovirus in domestic and wild pigs in Kerala, India. *Virusdisease* 2016;27(3):311–314.
2. Carr J, Chen S, Connor JF, Kirkwood RN, Segalés J. *Pig Health*. Boca Ratón, USA: CRC Press; 2018.
3. Knipe D, Howley M, Peter M. *Fields Virology*. Lippincott Williams and Wilkins, a Wolters Kluwer Business. USA. 2013.
4. Truyen U, Streck A. Parvoviruses relevance etiology. In: Zimmerman J, *et al*, editors *Diseases of swine*. 11th ed., USA: Wiley Blackwell; 2009:611–621.
5. Mengeling WL, Lager KM, Vorwald, AC. The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. *Anim Reprod Sci* 2000;60:199–210.
6. Pardave P. Estudio de parvovirus porcino en granjas de la Piedad Michoacán [tesis Maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México. 2013.
7. Ladekjær-Mikkelsen AS, Nielsen JA. Longitudinal study of cell-mediated immunity in pigs infected with porcine parvovirus. *Viral Immunol* 2002;15(2):373–384.
8. Ni J, Qiao C, Han X, Han T, Kang W, Zi Z, Cao Z, Zhai X, Cai X. Identification and genomic characterization of a novel porcine parvovirus (PPV6) in China. *Virol J* 2014;11(1):1–8.
9. Ren X, Tao Y, Cui J, Suo S, Cong Y, Tijssen P. Phylogeny and evolution of porcine parvovirus. *Virus Res* 2013;178(2):392–397.
10. Mészáros I, Olasz F, Cságola A, Tijssen P, Zádori Z. Biology of porcine parvovirus (*Ungulate parvovirus 1*). *Viruses* 2017;9(12):393.
11. PIC. *Sow & Gilt Management Manual*. USA. 2015.
12. Stephano A. Aislamiento, aclimatación y manejo de los animales de reemplazo en México - 3tres3.com. Comunidad profesional porcina. 2001. Madrid, España.
13. Morrilla A. Manual para el control de las enfermedades infecciosas de los cerdos. 2a ed. México, Manual Moderno; 2005.
14. Cheung AK, Wu G, Wang D, Bayles DO, Lager KM, Vincent AL. Identification and molecular cloning of a novel porcine parvovirus. *Arch Virol* 2010;155(5):801–806.

15. Saekhow P, Kishizuka S, Sano N, Mitsui H, Akasaki H, Mawatari T, Ikeda H. Coincidental detection of genomes of porcine parvoviruses and porcine circovirus type 2 infecting pigs in Japan. *J Vet Med Sci* 2015;77(12):1581–1586.
16. Xing X, Zhou H, Tong L, Chen Y, Sun Y, Wang H, Zhang G. First identification of porcine parvovirus 7 in China. *Arch Virol* 2018;163(1):209–213.
17. Xiao CT, Gerber PF, Giménez-Lirola LG, Halbur PG, Opriessnig T. Characterization of porcine parvovirus type 2 (PPV2) which is highly prevalent in the USA. *Vet Microbiol* 2013;161(3–4):325–330.
18. Xiao CT, Giménez-Lirola LG, Jiang YH, Halbur PG, Opriessnig T. Characterization of a novel porcine parvovirus tentatively designated PPV5. *PLoS ONE* 2013;8(6):1–11.
19. Cui J, Biernacka K, Fan J, Gerber PF, Stadejek T, Opriessnig T. Circulation of porcine parvovirus types 1 through 6 in serum samples obtained from six. *Transbound Emerg Dis* 2017;64(6):1945–1952.
20. Saekhow P, Mawatari T, Ikeda, H. Coexistence of multiple strains of porcine parvovirus 2 in pig farms. *Microbiol Immunol* 2014;58(7):382–387.
21. Garcia-Camacho LA, Vargas-Ruiz A, Marin-Flamand E, Ramírez-Álvarez H, Brown C. A retrospective study of DNA prevalence of porcine parvoviruses in Mexico and its relationship with porcine circovirus associated disease. *Microbiol Immunol* 2020;64(5):366–376.
22. Cobos L, Valdéz L. Manual de prácticas: Temas selectos de profundización disciplinaria en virología veterinaria. UNAM-FMVZ. México. 2015.
23. Rubí NPGC, Martínez-Castañeda, FE., Trujillo HE, Silva RES, Beltrán FR, García-Hernández ME, Trujillo-Ortega ME. Evaluation of sow seroconversion with the use of inoculum at different doses and vehicles against porcine epidemic diarrhea. *Rev Mex Cien Pecu* 2023;14(2):466–475.
24. Vierra A, Garcia M, Andreadis A. Survival analysis. In: Eltorai AEM, Bakal JA, Newell PC, Osband AJ. Handbook for designing and conducting clinical and translational surgery. Academic Press – Elsevier. 2023;487–490.
25. Brown H, Prescott R. Generalized linear mixed models. In: Brown H, Prescott R. Applied mixed models in medicine: 3er ed. Willey. 2014:113-167.
26. Molenberghs G, Verbeke G. A model for longitudinal data. In: Linear mixed models for longitudinal data. USA: Springer; 1997:19-29.

27. Uzal FA, Glenn SJ. In: Diseases of swine. Zimmerman J. Clostridial diseases. 11^{ava} ed. USA: John Wiley and Sons, Inc; 2019:792–806.
28. Zimmerman J. Diseases of swine. In Frana TS, Hau SJ. Staphylococcosis. 11^{ava} ed. USA: John Wiley and Sons, Inc; 2019:926–933.
29. Klonowska A, Moulin L, Ardley JK, Braun F, Gollagher MM, Zandberg JD, *et al.* Novel heavy metal resistance gene clusters are present in the genome of *Cupriavidus neocaledonicus* STM 6070, a new species of *Mimosa pudica* microsymbiont isolated from heavy-metal-rich mining site soil. BMC Genomics 2020;21(1):1–18.
30. Tiwari S, Nanda M. Bacteremia caused by *Comamonas testosteroni* an unusual pathogen. J Lab Physicians 2019;11(1):87-90.
31. DasSarma S, Coker JA, DasSarma PA. Encyclopedia of microbiology, 3ra ed, 2009;1–23.
32. Li Q. Bacterial infection and microbiota in carcinogenesis and tumor development. Front Cell Infect Microbiol 2023;13:1-13.
33. Qiu T, Zuo Z, Gao J, Gao M, Han M, Sun L, Zhang L, Wang, X. *Diaphorobacter polyhydroxybutyrativorans* sp. nov., a novel poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-degrading bacterium isolated from biofilms. IJSEM, 2015;65(9):2913–2918.
34. Velegraki A, Cafarchia C, Gaitanis G, Iatta R, Boekhout T. Malassezia infections in humans and animals: Pathophysiology, detection, and treatment. PLoS One 2015;11(1):e1004523.
35. Dahal P, Singh-Phulgenda S, Maguire BJ, Harriss E, Ritmeijer K, Alves F, Guerin PJ, Olliaro PL. Visceral leishmaniasis in pregnancy and vertical transmission: A systematic literature review on the therapeutic orphans. PLoS One 2021;15(8):e0009650.
36. Ma Y, Lu M, Xu S, Wu J, Tian K, Zhang J. Identification of full-length proviral DNA of porcine endogenous retrovirus from Chinese Wuzhishan miniature pigs inbred. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2010;33(4):323–331.
37. Gava D, Souza CK, Schaefer R, Vincent AL, Cantão ME, Coldebella A, Ciacci-Zanella JR. A TaqMan-based real-time PCR for detection and quantification of porcine parvovirus 4. J Virol Methods 2015;219:14–17.
38. Kim SC, Kim JH, Kim JY, Park GS, Jeong CG, Kim WI. Prevalence of porcine parvovirus 1 through 7 (PPV1-PPV7) and co-factor association with PCV2 and PRRSV in Korea. BMC Vet Res 2022;18(1):133.

39. Afolabi KO, Iweriebor BC, Okoh AI, Obi LC. Increasing diversity of swine parvoviruses and their epidemiology in African pigs. *Infect Genet Evol* 2019;73:175–183.
40. Lau SKP, Woo PCY, Tse H, Fu CTY, Au WK, Chen XC, *et al.* Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus 4. *J Gen Virol* 2008;89(8):1840–1848.
41. Miłek D, Woźniak A, Guzowska M, Stadejek T. Detection patterns of porcine parvovirus (PPV) and novel porcine parvoviruses 2 through 6 (PPV2–PPV6) in Polish swine farms. *Viruses* 2019;11(5):474.
42. Miłek D, Woźniak A, Podgórska K, Stadejek T. Do porcine parvoviruses 1 through 7 (PPV1-PPV7) have an impact on porcine circovirus type 2 (PCV2) viremia in pigs? *Vet Microbiol* 2020;242:108613.
43. Cano P. Identificación de parvovirus porcino (PVP), análisis productivo, reproductivo y económico en una granja porcina de ciclo completo, después de un brote de diarrea epidémica porcina (DEP) [tesis Licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México. 2018.
44. Luevano J, Sarmiento R, Mendoza S, Trujillo, ME. Valoración de la vacunación contra parvovirus porcino en granjas afectadas previamente a diarrea epidémica porcina [tesis Maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México. 2020.
45. Luevano J, Molina R, Díaz C, Martínez F, Trujillo, ME. Descripción de un brote de parvovirus porcino en una granja de ciclo completo en el norte de Sonora. Congreso Nacional e Internacional Virtual AMVEC. 2021.
46. Noguera M, Vela A, Kraft C, Chevalier M, Goutebroze S, de Paz X, Kunze M, Rathkjen P, Schacht E, Garcia-Morante B. Effects of three commercial vaccines against porcine parvovirus 1 in pregnant gilts. *Vaccine* 2021;39(29):3997–4005.
47. Garcia-Morante B, Noguera M, Klocke S, Sommer K, Bridger P. Duration of immunity against heterologous porcine parvovirus 1 challenge in gilts immunized with a novel subunit vaccine based on the viral protein 2. *BMC Vet Res* 2020;16(184):2-10.
48. Streck AF, Gava D, Souza CK, Gonçalves KR, Bortolozzo FP, Wentz I, Canal C W. Das Vorhandensein von Porzinem Parvovirus in Serum von Schweinen ist unabhängig vom Antikörpertiter. *Berl tierarztl*, 2011;124(5–6):242–246.
49. Csa'gola A, Lorincz M, Toba'cz K, Tuboly T. Intermittent elimination of Porcine Parvovirus 4 (PPV4) in naturally infected swine semen: first report Seminal: *Cienc Agrar* 2018;39(5):2281-2285.