

## Original researches

### Metabolic profile of blood of pigs infected with porcine epidemic diarrhea

D. M. Masiuk\*, V. S. Nedzvetsky\*, \*\*, A. V. Kokariiev\*, T. O. Vasylenko\*

\*Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

\*\*Bingöl University, Bingöl, Turkey

Received: 02 September 2019

Revised: 10 September 2019

Accepted: 30 September 2019

Dnipro State Agrarian and Economic  
University, Sergii Efremov Str., 25, Dnipro,  
49600, Ukraine  
Tel.: +38-097-454-51-97  
E-mail: dimasiuk@gmail.com

Bingöl University, Bingöl, Turkey, Selahaddin-  
Eyyubi Mah. Üniversite Cad. No. 1, Bingöl,  
12000, Turkey.  
Tel.: +90-426-216-00-12  
E-mail: nedzvetskyvictor@ukr.net

**Cite this article:** Masiuk, D. M., Nedzvetsky,  
V. S., Kokariiev, A. V., & Vasylenko, T. O.  
(2019). Metabolic profile of blood of pigs  
infected with porcine epidemic diarrhea.  
*Theoretical and Applied Veterinary Medicine*,  
7(3), 167–171. doi: 10.32819/2019.71030

**Abstract.** Porcine epidemic diarrhea (PED) is an emergent, highly contagious viral disease of pigs of different ages with the development of lethal diarrhea syndrome in non-immune piglets, the causative agent of which is virus Porcine epidemic diarrhea. The main symptom of PED is watery diarrhea with is observed in piglets of 1 week of age are manifested by depressed behavior, lack of appetite, and liquid feces without any signs of blood. The aim of this work was to find out the metabolic profile of the blood of piglets infected with the virus of epidemic diarrhea of pigs. For the study were formed 3 groups of piglets at the age of 16–18 days of life with characteristic clinical signs, selected in each of the examined farms. The first group consisted of 44 animals, the second group – 32, and 6 clinically healthy animals were isolated in a separate group – control. Blood for the study was taken from piglets for 3–4 days after the appearance of clinical signs of PED. Hematological parameters were determined on an automatic hematological analyzer. The ratio of various forms of leukocytes was determined by counting them in stained blood smears. Biochemical studies were carried out by conventional methods using an automatic biochemical analyzer. As a result of the studies, it was found that in case of a disease of epidemic diarrhea in pigs, changes in blood hematological parameters occur, characterized by an increase in the number of red blood cells and white blood, hematocrit and hemoglobin levels with a simultaneous increase in RES, which indicates the development of hypovolemic polycythemia on the background of dehydration of sick animals. An increase in the activity of aminotransferases, amylase, alkaline phosphatase and urea level was established, against a background of a decrease in the albumin fraction of the protein, glucose, cholesterol and total lipoproteins, which is due to depletion and intoxication of the body of patients with epidemic diarrhea of pigs. Thus, the results of studies of the metabolic parameters of blood of piglets with clinical signs of PED indicate dehydration, depletion and intoxication of the organism of sick pigs, occurs against the background of damage and destruction of cell small intestine by coronavirus.

**Keywords:** PED virus; piglets; morphological and biologic blood counts.

### Метаболічний профіль крові поросят, інфікованих вірусом епідемічної діареї свиней

Д. М. Масюк\*, В. С. Недзвечський\*, \*\*, А. В. Кокареєв\*, Т. О. Василенко\*

\*Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

\*\*Університет Бінголя, Бінголь, Туреччина

**Анотація.** Епідемічна діарея свиней (ЕДС) – це емерджентне висококонтагіозне вірусне захворювання свиней різного віку, що характеризується розвитком летального діарейного синдрому у неімунних поросят, збудник якого – вірус епідемічної діареї свиней. Основний симптом захворювання – водяниста діарея, що спостерігається у поросят тижневого віку, супроводжується пригніченою поведінкою, відсутністю апетиту, водянистим калом без ознак крові. Мета роботи – з'ясування метаболічного профілю крові поросят, інфікованих вірусом епідемічної діареї свиней. Для дослідження були сформовані 3 групи поросят у віці 16–18 днів життя з характерними клінічними ознаками, відібрані в кожному з обстежених господарств. Перша група складалася із 44 тварин, друга – із 32, а 6 клінічно здорових тварин були виділені в окрему групу – контрольну. Кров для дослідження відбирали протягом 3–4 днів після появи клінічних ознак. Гематологічні показники визначали на автоматичному гематологічному аналізаторі. Співвідношення різних форм лейкоцитів визначали шляхом підрахунку їх у забарвлених мазках крові. Біохімічні дослідження проводили загальноприйнятими методами з використанням автоматичного біохімічного аналізатора. Встановлено, що в разі захворювання на епідемічну діарею у свиней відбуваються зміни гематологічних показників крові, які характеризуються збільшенням кількості еритроцитів і лейкоцитів, гематокриту і гемоглобіну з одночасним збільшенням ШОЕ, що свідчить про розвиток гіповолемічної поліцитемії на тлі зневоднення організму хворих тварин. Установлено підвищення активності амінотрансфераз, амілази, лужної фосфатази і сечовини на тлі зниження альбумінової фракції білка, глюкози, холестерину і загальних ліпопротеїнів, що пов'язано з виснаженням і інтоксикацією організму хворих на епідемічну діарею свиней. Результати досліджень метаболічних показників крові поросят із клінічними проявами ЕДС свідчать про зневоднення, виснаження й інтоксикацію організму хворих свиней, що виникають на тлі пошкодження і руйнування тонкої кишки коронавірусом.

**Ключові слова:** вірус ЕДС; поросята; морфологічні та біохімічні показники крові.

## Вступ

Епідемічна діарея свиней (ЕДС, PED) – це емерджентне, висококонтагіозне вірусне захворювання свиней різного віку з розвитком летального діарейного синдрому у неімунних поросят, збудником якого постає *Porcine epidemic diarrhea virus* (PEDv). Таксономія: Gender – *Alphacoronavirus*, Family – *Coronaviridae*, Order – *Nidovirales*. За результатами секвенування виділяють дві генетичні класи – північноамериканську та китайську, для яких характерний високий ступінь гомології геному (Kocherhans et al., 2001; Jung et al., 2015; Hu et al., 2015; Miller et al., 2016).

За результатами глобальних моніторингових спостережень, представлених МЕБ (OIE), епідемічна діарея свиней визнана однією з найнебезпечніших та емерджентних вірусних інфекцій новонароджених поросят. Важлива і ключова біологічна властивість вірусу ЕДС полягає у надзвичайно високій здатності до спонтанних мутацій у польових варіантах, що визначає значну генетичну неоднорідність епізоотичних ізолятів та їх вірулентну мінливість. Мутантні клони вірусу ЕДС експресують модифіковані антигени, які дозволяють ефективно уникати імунологічного контролю, стимульованого вакциною. Відсутність імунного контролю за короткий час викликає прогресування інфекції в господарствах (місцеве населення), а висока патогенність для неонатальних неімунних поросят спричиняє значні економічні втрати (Pillatzki et al., 2015; Thomas et al., 2015; Chen et al., 2016).

Основний шлях інфікування вірусом ЕДС – це пероральне потрапляння збудника до організму тварин, що зумовлює фекально-оральний механізм передачі. Однак існує багато непрямих можливостей інфікування через контаміновані вірусом об'єкти навколишнього середовища, такі як одяг та взуття персоналу, транспортні засоби, корми, відходи свинарства, а також такі вектори розповсюдження вірусу як комахи та гризуни (Masiuk et al., 2018). Низька якість дезінфекції та тривалий період зберігання вірусу в навколишньому середовищі, особливо в холодну пору року, становлять значний епізоотичний ризик (Lowe et al., 2014; Lin et al., 2015; Crawford et al., 2015).

Відсутність ефективних противірусних засобів, які дозволяють розірвати епізоотичний ланцюг інфекції ЕДС у широкому діапазоні генетичних варіантів польових вірусних штамів, визначає складність протипрофілактичних заходів. Знищення інфікованих тварин, проведення дезінфекційних заходів, заміна поголів'я свиней можуть сприяти реінфекції у випадках недотримання правил дезінфекції та імунопрофілактики (Lee, 2015).

Основний симптом ЕДС – водяниста діарея. Під час спалаху хвороби серед різних вікових груп свиней захворюваність та смертність можуть значно відрізнятися. Інфіковані поросята у перші 7–10 днів життя зазвичай гинуть упродовж 3–4 днів. Середній рівень смертності у цей час становить близько 50 %, але може досягати і 90–100 %. У відгодівельних господарствах може спостерігатись значна мінливість клінічних ознак під час гострого спалаху ЕДС. Симптоми захворювання, що реєструються у поросят тижневого віку, проявляються пригніченою поведінкою, відсутністю апетиту, водянистим калом без будь-яких ознак крові. Одужання, як правило, настає через 7–10 днів після інфікування, летальність свиней у відгодівельний період становить 1–3 %, але може різко збільшитись унаслідок технологічних навантажень. Розповсюдженість вірусу ЕДС серед свинопоголів'я зазвичай повільніша, ніж трансмісивного гастроентериту на племінних фермах, і займає від 4 до 5 тижнів після потрапляння збудника в популяцію чутливих тварин (Stevenson et al., 2013; Lowe et al., 2014).

Мета дослідження: з'ясувати метаболічний профіль крові поросят, інфікованих вірусом епідемічної діареї свиней.

## Матеріал і методи досліджень

Робота проводилась у Науково-дослідному центрі біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Для дослідження сформовано 3 групи поросят віком 16–18 днів життя: 6 клінічно здорових тварин виділили в окрему групу – контрольну. Групи поросят із найхарактернішими клінічними ознаками були відібрані в кожному з обстежених господарств і з цих тварин було сформовано дослідні групи тварин № 1 і № 2 по 44 та 32 тварини відповідно.

Кров для дослідження відбирали від поросят на 3–4-ту добу після появи клінічних ознак ЕДС. Кількість еритроцитів та лейкоцитів, рівень гемоглобіну та гематокрит визначали у крові за допомогою автоматичного аналізатора гематології PCE-90 Vet (Н.Т.І., США).

Співвідношення різних форм лейкоцитів визначали за допомогою мікроскопії в зразках крові, забарвлених за Романовським-Гімзе, шляхом підрахунку 200 клітин.

Біохімічні дослідження крові проводили за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора Miura 200 (I.S.E. Srl, Італія) та відповідних наборів реагентів виробництва компанії High Technology (США).

Варіацію та статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення *Statistica 6* (StatSoft Inc, США). Значущість відмінностей оцінювали після перевірки експериментальних даних, отриманих для нормального розподілу, використовуючи t-тест Стьюдента або його непараметричний аналог – тест Вілкоксона. Вибіркові параметри, наведені у статті, мають такі позначення:  $\bar{x}$  – середня вибірка,  $SE$  – стандартна похибка середнього значення.

## Результати

Установлено значні зміни кількості лейкоцитів у крові поросят, інфікованих вірусом ЕДС, що позначилось збільшенням імунних клітин у середньому в 1,98 раза ( $P < 0,05$ ) порівняно з контрольною групою тварин. Це свідчить про стимуляцію клітинного імунітету (рис. 1).

Результати дослідження гематологічних показників крові у поросят, інфікованих вірусом ЕДС, вказують на розвиток абсолютного моноцитозу, про що свідчить збільшення кількості моноцитів майже вдвічі ( $P < 0,05$ ) порівняно з клінічно здоровими тваринами (табл. 1).

На підставі отриманих результатів дослідження морфологічних показників крові встановлено, що у поросят, інфікова-

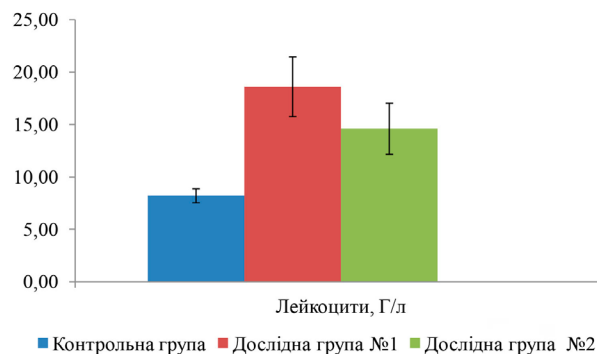


Рис. 1. Кількість лейкоцитів у крові поросят за ЕДС

**Таблиця 1.** Співвідношення різних форм лейкоцитів у крові поросят за ЕДС ( $x \pm SE$ )

Показник	Контрольна група (n = 6)	Дослідна група № 1 (n = 44)	Дослідна група № 2 (n = 32)
Базофіли	0	0	0
Еозинофіли	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,2	0,9 ± 0,2
Паличкоядерні нейтрофіли	1,2 ± 0,3	2,6 ± 0,2	3,5 ± 0,3
Сегментоядерні нейтрофіли	45,8 ± 3,7	39,3 ± 3,9	43,3 ± 3,8
Лімфоцити	50,2 ± 3,5	54,2 ± 4,2	49,2 ± 4,1
Моноцити	1,6 ± 0,3	2,8 ± 0,4*	3,1 ± 0,4*

*Примітка:* різниця між значеннями поросят із діарейним синдромом та клінічно здоровими поросятами: \*  $P < 0,05$ .

них вірусом ЕДС, спостерігається збільшення кількості еритроцитів на 34,1 % ( $P < 0,05$ ) та показника ШОЕ в середньому в 5,9 раза ( $P < 0,01$ ) порівняно з клінічно здоровими поросятами (рис. 2).

Також встановлено достовірне підвищення рівня гемоглобіну на 25,5 % ( $P \leq 0,05$ ) та гематокритного показника на 61,3 % ( $P \leq 0,05$ ) в крові поросят, інфікованих вірусом ЕДС, порівняно з клінічно здоровими тваринами (рис. 3).

Отже, за епідемічної діареї у свиней відбуваються зміни гематологічних показників крові, що супроводжуються відносним лейкоцитозом з абсолютним моноцитозом на тлі гіповолемічної поліцитемії.

Аналіз результатів, наведених у таблиці 2, не виявив суттєвої різниці між показниками мінерального обміну в сироватці крові поросят за епідемічної діареї свиней.

За результатами дослідження загального білка та його фракцій у сироватці крові поросят за ЕДС встановлено достовірне зниження рівня загального білка в середньому на 22,2 % ( $P < 0,05$ ), за рахунок зменшення на 49,8 % фракції альбумінів ( $P < 0,05-0,01$ ), порівняно з показниками клінічно здорових поросят (рис. 4).

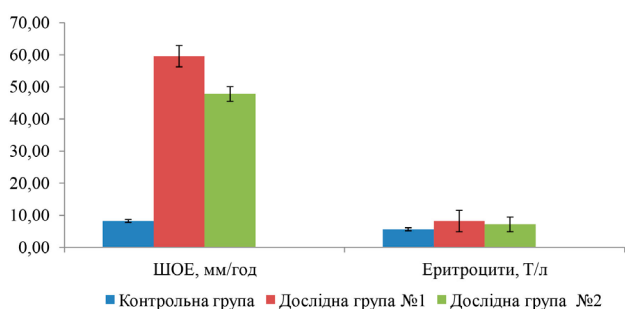
Також встановлено достовірне підвищення рівня сечовини у тварин з ознаками ЕДС на 53,4 % ( $P < 0,01$ ) та 51,8 % ( $P < 0,05$ ) порівняно з показниками клінічно здорових поросят (рис. 5).

Одночасно із цим виявлено зменшення рівня холестерину у крові тварин, хворих на ЕДС, у 2,8 ( $P < 0,05$ ) та 7,9 раза ( $P < 0,05$ ) порівняно з показниками клінічно здорових поросят.

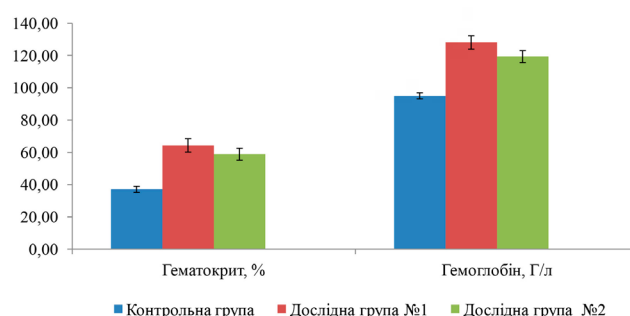
Рівень лужної фосфатази був вищий у поросят із діарейним синдромом відносно клінічно здорових поросят у 2,5 та 2,7 раза відповідно, а також загальних ліпопротеїнів на 80,76 % ( $P \leq 0,01$ ). Збільшений рівень лужної фосфатази опосередковано вказує на порушення функції клітин кишечника (рис. 6).

Також у хворих свиней виявлено зниження глюкози на 63,8 % ( $P < 0,05$ ) порівняно зі значеннями клінічно здорових тварин (рис. 7).

За результатами дослідження активності ферментів у сироватці крові поросят встановлено підвищення активності амілази, аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази відповідно в середньому в 1,7 ( $P < 0,01$ ), 1,6 ( $P < 0,05$ ) та 2,7 раза ( $P < 0,05$ ) порівняно з показниками клінічно здорових тварин (рис. 8).



**Рис. 2.** Рівень ШОЕ та кількість еритроцитів у крові поросят за ЕДС



**Рис. 3.** Рівень гематокриту та кількість еритроцитів у крові поросят за ЕДС

**Таблиця 2.** Показники мінерального обміну в крові поросят ( $x \pm SE$ )

Біохімічні показники крові поросят	Контрольна група (n = 6)	Дослідна група № 1 (n = 44)	Дослідна група № 2 (n = 32)
Кальцій, ммоль/дм <sup>3</sup>	2,53 ± 0,12	2,81 ± 0,42	2,49 ± 0,37
Неорганічний фосфор, ммоль/дм <sup>3</sup>	1,51 ± 0,19	1,68 ± 0,14	1,39 ± 0,12
Са/Р, Од	1,75 ± 0,19	1,67 ± 0,12	1,79 ± 0,18

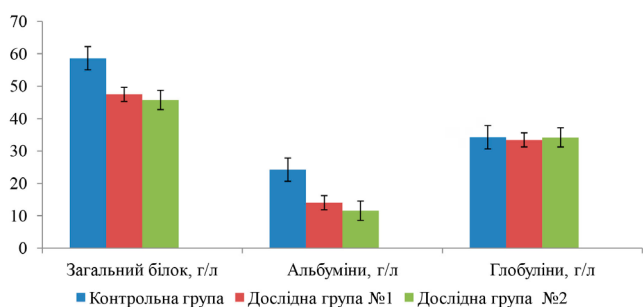


Рис. 4. Рівень загального білка та його фракцій у крові поросят за ЕДС

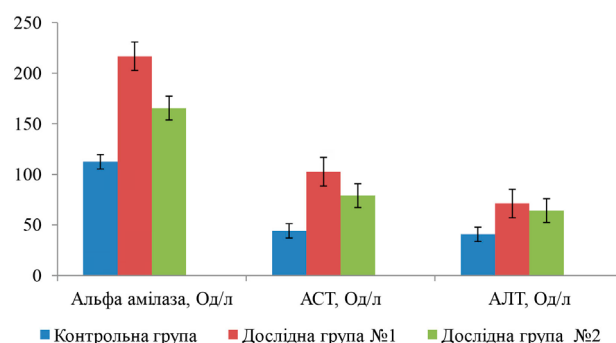


Рис. 8. Показники активності ферментів у крові поросят за ЕДС

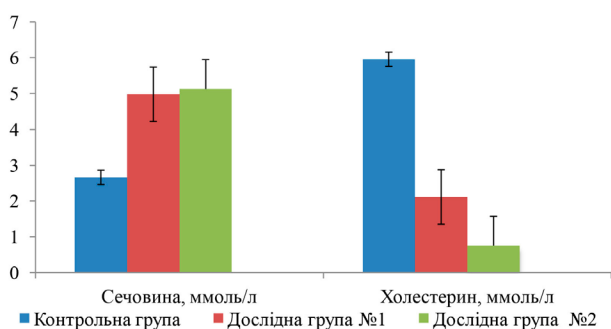


Рис. 5. Рівень сечовини та холестерину у крові поросят за ЕДС

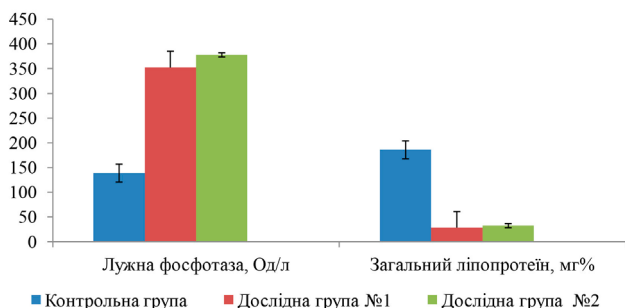


Рис. 6. Активність лужної фосфатази та рівень загальних ліпопротеїнів у крові поросят за ЕДС

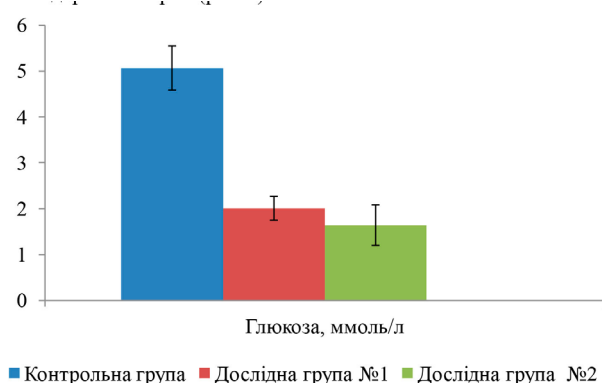


Рис. 7. Рівень глюкози у крові поросят за ЕДС

Отже, результати біохімічного дослідження сироваток крові від поросят із клінічними проявами ЕДС свідчать про інтоксикацію тварин, на що вказує підвищення активності амінотрансфераз на тлі дегідратації і виснаження їх організму.

### Обговорення

Розвиток інфекції ЕДС відбувається за основними двома типами: класичним, із летальним діарейним синдромом у новонароджених неімунних поросят, або за типом нелетального діарейного синдрому за відносно легкого перебігу захворювання у тварин старших вікових груп (Stevenson et al., 2013; Stadler et al., 2015).

Особливості патогенезу вірусу ЕДС у поросят гнотобіотів, які не отримували молозива, описані у праці Jung et al. (2014). Неонатальних поросят 3-денного віку щеплювали прототипом штаму PC21A. Перші симптоми захворювання у групі інфікованих тварин були виявлені через 22–36 годин, що узгоджується з результатами наших досліджень та обумовлено інтенсивною реплікацією вірусу ЕДС у клітинах тонкого кишечника поросят (Jung et al., 2015).

Результати біохімічного дослідження крові поросят із клінічними проявами дії вірусу ЕДС вказують на суттєве підвищення активності гепатоспецифічних ферментів: аспартат- та аланінамінотрансферази, а також знижений рівень альбумінів. Це підтверджує, що тварини загинули внаслідок аутоінтоксикації. Більше того, у зразках крові хворих поросят виявлено зниження рівня холестерину, глюкози та загальних ліпопротеїнів з одночасним збільшенням рівня сечовини, що свідчить про виснаження енергетичних запасів їх організму.

Показано також підвищену активність амілази та лужної фосфатази, що може бути наслідком запалення тонкої кишки, індукованого вірусом ЕДС. Pillatzki et al. (2015) продемонстрували важливу особливість динаміки ЕДС-інфекції. Виявлено, що збільшення інфікувальної дози вірусу ЕДС зменшує тривалість інкубаційного періоду захворювання на час, необхідний для початкової стадії розмноження вірусу в ентероцитах до першого покоління збудника. Далі відбувається масове інфікування епітелію тонкої кишки, внаслідок чого інфекційний процес супроводжується розвитком синдрому водянистої діареї, про що вказують результати Stevenson et al. (2013), Stadler et al. (2015), Prapassorn et al. (2018).

Результати гематологічного аналізу крові поросят із діарейним синдромом, індукованим вірусом ЕДС, свідчать про гемоконцентрацію, що супроводжується збільшенням кількості клітин крові та показника гематокриту. Це вказує на розвиток гіповолемічної поліцитемії. Гемоконцентрація – надзвичайно несприятливе патофізіологічне явище, оскільки спричинює кисневу недостатність тканин, особливо головного мозку. Також встановлено збільшення показника ШОЕ, яке



залежить від ступеня агрегації еритроцитів та концентрації в плазмі “білків гострої фази” – маркерів запального процесу.

Таким чином, результати досліджень метаболічних показників крові поросят із клінічними проявами ЕДС свідчать про зневоднення, виснаження та інтоксикацію організму хворих свиней, що відбувається на тлі ураження та руйнування ентероцитів тонкої кишки коронавірусом.

### Висновки

Метаболічний профіль крові поросят, інфікованих вірусом епідемічної діареї свиней, характеризується збільшенням кількості еритроцитів і лейкоцитів, рівня гематокриту та гемоглобіну з одночасним підвищенням показника ШОЕ, що свідчить про розвиток гіповолемічної поліцитемії на тлі зневоднення організму хворих тварин.

Установлено підвищення активності амінотрансфераз, амілази, лужної фосфатази та рівня сечовини на тлі зниження альбумінової фракції білка, вмісту глюкози, холестерину та загальних ліпопротеїнів, що зумовлено виснаженням та інтоксикацією організму хворих на епідемічну діарею свиней.

### References

- Chen, Q., Gauger, P. C., Stafne, M. R., Thomas, J. T., Madson, D. M., Huang, H., Zheng, Y., Li, G., & Zhang, J. (2016). Pathogenesis comparison between the United States porcine epidemic diarrhoea virus prototype and S-INDEL-variant strains in conventional neonatal piglets. *Journal of General Virology*, 97, 1107–1121.
- Crawford, K., Lager, K., Miller, L., Opriessnig, T., Gerber, P., & Hesse, R. (2015). Evaluation of porcine epidemic diarrhea virus transmission and the immune response in growing pigs. *Veterinary Research*, 46–49.
- Hu, H., Jung, K., Vlasova, A. N., Chepngeno, J., Lu, Z., Wang, Q., & Saif, L. J. (2015). Isolation and characterization of porcine deltacoronavirus from pigs with diarrhea in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 53, 1537–1548.
- Jung, K., Eyerly, B., Annamalai, T., Lu, Z., & Saif, L. J. (2015). Structural alteration of tight and adherens junctions in villous and crypt epithelium of the small and large intestine of conventional nursing piglets infected with porcine epidemic diarrhea virus. *Veterinary Microbiology*, 177, 373–378.
- Jung, K., Wang, Q., Scheuer, K. A., Lu, Z., Zhang, Y., & Saif, L. J. (2014). Pathology of US porcine epidemic diarrhea virus strain PC21A in gnotobiotic pigs. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 20, 662–665.
- Kocherhans, R., Bridgen, A., Ackermann, M., & Tobler, K. (2001). Completion of the porcine epidemic diarrhoea coronavirus (EPCV) genome sequence. *Virus Genes*, 23, 137–144.
- Lee, C. (2015). Porcine epidemic diarrhea virus: An emerging and re-emerging epizootic swine virus. *Virology Journal*, 12(193), 1–16.
- Lin, C. M., Gao, X., Oka, T., Vlasova, A. N., Esseili, M. A., Wang, Q., & Saif, L. J. (2015). Antigenic relationships among porcine epidemic diarrhea virus and transmissible gastroenteritis virus strains. *Journal of Virology*, 89, 3332–3342.
- Lowe, J., Gauger, P., Harmon, K., Zhang, J., Connor, J., Yeske, P., Loula, T., Levis, I., Dufresne, L., & Main, R. (2014). Role of transportation in spread of porcine epidemic diarrhea virus infection, United States. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 20 (5), 872–874.
- Masiuk, D. N., Nedzvetsky, V. S., Sosnitskiy, A. I., Kokarev, A. V., & Koliada, S. G. (2018). The characteristics, emergent properties and manner of spread in Ukraine of the Porcine Epidemic Diarrhea Virus. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(3), 401–408.
- Miller, L. C., Crawford, K. K., Lager, K. M., Kellner, S. G., & Brockmeier, S. L. (2016). Evaluation of two real-time polymerase chain reaction assays for Porcine epidemic diarrhea virus (EPCV) to assess EPCV transmission in growing pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28, 20–29.
- Prapassorn, B., Alongkot, B., Urai, P., & Tanatpon, P. (2018). The comparison of villous damage at different ages of piglets infected with porcine epidemic diarrhea virus. *Chiang Mai Veterinary Journal*, 16(1), 37–46.
- Pillatzki, A., Gauger, P., Madson, D., Burrough, E., Zhang, J., Chen, Q., Magstadt, D., Arruda, P., Stevenson, G., & Yoon, K. J. (2015). Experimental inoculation of neonatal piglets with feed naturally contaminated with porcine epidemic diarrhea virus (EPCV). *Journal of Swine Health & Production*, 23 (6), 317–320.
- Stadler, J., Zoels, S., Fux, R., Hanke, D., Pohlmann, A., Blome, S., Weissenböck, H., Weissenbacher-Lang, C., Ritzmann, M., & Ladinig, A. (2015). Emergence of porcine epidemic diarrhea virus in southern Germany. *BMC Veterinary Research*, 11, 142.
- Stevenson, G. W., Hoang, H., Schwartz, K. J., Burrough, E. R., Sun, D., Madson, D., Cooper, V. L., Pillatzki, A., Gauger, P., Schmitt, B. J., Koster, L. G., Killian, M. L., & Yoon, K. J. (2013). Emergence of Porcine epidemic diarrhea virus in the United States: clinical signs, lesions, and viral genomic sequences. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25, 649–654.
- Thomas, J. T., Chen, Q., Gauger, P. C., Gimenez-Lirola, L. G., Sinha, A., Harmon, K. M., Madson, D. M., Burrough, E. R., Magstadt, D. R., Salzbrenner, H. M., Welch, M. W., Yoon, K. J., Zimmerman, J. J., & Zhang, J. (2015). Effect of Porcine epidemic diarrhea virus infectious doses on infection outcomes in naive conventional neonatal and weaned pigs. *PLoS One* 10:e0139266.