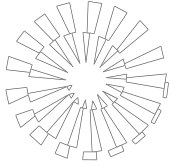

Notas de investigación

Presencia de animales seropositivos al síndrome reproductivo y respiratorio porcino en Nuevo León



Presence of seropositive animals to the porcine respiratory and reproductive syndrome virus in Nuevo Leon

José Antonio Salinas Meléndez* Jorge Lara Arias* Héctor Flores Andrade* Ramiro Ávalos Ramírez*
Juan José Zárate Ramos* Víctor Riojas Valdés* José C. Segura Correa**

Abstract

A preliminary study was carried out to obtain serological evidence of the presence of the porcine respiratory and reproductive syndrome (PRRS) virus and the risk of infection in different areas and phases of production in five full cycle pig farms in the state of Nuevo Leon, Mexico. Sixty blood samples of each farm were obtained (10 for each phase of production: weaning, growing, finishing, pregnancy, lactation and mating-service). The detection of antibodies against the PRRS virus was carried out using a commercial kit. All farms were positives in all phases of production. The highest seroprevalences were found in the growing and finishing phases (36% y 56%, respectively).

Key words: PIGS, PREVALENCE, PRRS, NUEVO LEON, MEXICO.

Resumen

Se realizó un estudio preliminar para obtener evidencia serológica de la presencia del virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS, por sus siglas en inglés) y del riesgo de infección en las diferentes áreas y etapas de producción en cinco granjas porcinas de ciclo completo en Nuevo León, México. Se obtuvieron 60 muestras de sangre de cada granja (diez para cada etapa de producción: destete, iniciación, finalización, cerdas gestantes, lactando o en monta-servicio). La detección de anticuerpos antiviral del PRRS se realizó utilizando un equipo comercial. Todas las granjas resultaron positivas en las diferentes etapas de producción. La seroprevalencia fue mayor en las etapas de inicio y finalización (36% y 56%, respectivamente).

Palabras clave: CERDOS, PREVALENCIA, PRRS, NUEVO LEÓN, MÉXICO.

Recibido el 6 de enero de 2006 y aceptado el 27 de febrero de 2008.

*Departamento de Microbiología y Unidad de Biotecnología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Lazaro Cárdenas 4600, Unidad Mederos, Monterrey, Nuevo León, México, 64930, Tel.: 52 (81) 83490661, correo electrónico: antoniosalinas@hotmail.com

**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, km 15.5, Carretera Mérida-Xmatkuil, Apartado postal 4-116, Mérida, Yucatán, México.

Introduction

The porcine respiratory and reproductive syndrome (PRRS) is one of the main diseases that cause great economic losses to the worldwide porcine industry. This disease is characterized by causing a cold profile in animals of all ages, which causes fertility diminishment in sows because of the increment in estrus repetitions, as well as late abortions, presence of mummified piglets, stillbirths or weakborn piglets and by death of piglets during lactation and weaning, this originates economical losses.¹ In the United States of America, PRRS has been described as the most devastating disease in porcine farms, which causes severe and endemic outbreaks during months or years. In herds where it is present, this disease causes imbalance of infections, caused by primary and secondary microorganisms, for which diverse kind of diseases such as: atrophic rhinitis, pneumonias and salmonellosis are increased. Also, in infected farms PRRS virus can be reactivated after an inactivated period and present clinical signs in animals. Primary effects of this virus affect the respiratory and reproductive systems, which increases susceptibility to other diseases. The majority of pigs, particularly the elders, recover from PRRS, but some die because of secondary infections.

In a study where sera from euthanized animals from slaughterhouses of diverse states of the Mexican Republic were analyzed, it was determined that in the majority of them there were pigs with antibodies against PRRS virus, resulting in seroprevalences of 12% to 85%.² In Yucatan, Mexico, PRRS is an endemic disease, since all the sampled farms³ (n = 37) were seropositive to PRRS virus. Nevertheless, in Nuevo Leon there is no knowledge of the epidemiology of PRRS virus, for which serological detection and the description of the associated factors with the infection in the zone area could give useful data for the elaboration of prevention and control programs of the disease. The objective of the present study was to do a serological diagnosis to determine the presence of positive seroreactors to PRRS virus from pig blood serum, as well as to assess the prevalence in each farm during their different production stages, to support the establishment of corrective sanitary measures with the aim to improve the production.

The study was done in five full cycle pig farms in Nuevo Leon, from January to March of 2002, where there was no vaccination against PRRS. Farms were identified as A, B, C, D and E, three of them are located in the county of Agualeguas, Dr. Gonzalez, Pesqueria and two in Sabinas Hidalgo, Nuevo Leon. Although there were no records of productive or clinical signs in the farms, it was observed that sows fre-

Introducción

El síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS, por sus siglas en inglés) es una de las principales enfermedades que causan daños económicos graves a la industria porcina en el mundo. Esta enfermedad se caracteriza por producir un cuadro gripal en animales de todas las edades, que ocasiona disminución en la fertilidad de las cerdas por el aumento en las repeticiones de estro, así como por abortos tardíos, presencia de lechones momificados, lechones mortinatos o débiles y por la mortalidad de lechones durante la lactancia y el destete, ello origina pérdidas económicas.¹ En Estados Unidos de América el PRRS se ha descrito como la enfermedad más devastadora en las granjas porcinas, que causa brotes severos y endémicos con duración de meses o años. En las piaras donde se presenta, esta enfermedad provoca desbalance de las infecciones, ocasionadas por microorganismos primarios y secundarios, por lo que se incrementan las enfermedades de diversa índole como rinitis atrófica, neumonías y salmonelosis. Además, en las granjas infectadas el virus del PRRS puede reactivarse nuevamente después de algún periodo de inactividad y presentar signos clínicos en los animales. Los efectos primarios de este virus afectan los sistemas respiratorio y reproductivo, lo cual acentúa la susceptibilidad a otras enfermedades. La mayoría de los cerdos, particularmente los de mayor edad, se recuperan del PRRS, pero algunos mueren por infecciones secundarias.

En un estudio donde se analizaron sueros de animales sacrificados en rastros de los diferentes estados de la República Mexicana, se determinó que en la mayoría de ellos existen cerdos con anticuerpos contra el virus del PRRS, resultando en seroprevalencias de 12% a 85%.² En Yucatán, México, el PRRS es una enfermedad endémica, ya que todas las granjas muestreadas³ (n = 37) fueron seropositivas al virus del PRRS. Sin embargo, en Nuevo León no se conoce la epidemiología del virus del PRRS, por lo que la detección serológica y la descripción de los factores asociados con la infección en granjas de la zona podrían proporcionar datos útiles para la elaboración de programas de prevención y control de la enfermedad. El objetivo del presente estudio fue realizar un diagnóstico serológico para determinar la presencia de serorreectores positivos al virus del PRRS a partir de suero sanguíneo de cerdos, así como determinar la prevalencia en cada granja en sus diferentes etapas de producción, para apoyar el establecimiento de medidas correctivas sanitarias con el fin de mejorar la productividad.

El estudio se realizó en cinco granjas porcinas de ciclo completo de Nuevo León, de enero a marzo de

quently repeated estrus, that piglets were born weak and died later. From each farm, blood samples were taken from 60 animals randomly selected, for a total of 300 animals sampled. With the aim to determine the number of animals to sample in each farm, a 20 % prevalence was considered, level of confidence of 95% and precision of 10% with the formula:⁴

$$n = \frac{z^2 \times p \times q}{d^2}$$

where:

$z = 1.96$ (table value of the normal standard distribution with 95% of confidence)

$p =$ expected prevalence of seropositives

$q = 1-p$ (expected prevalence of seropositives)

$d =$ desired precision.

The animal population in each farm varied from 300 to 600 sows, for the present research it was divided in reproduction and production area. In the first, the animals were classified in three stages: pregnant, lactating and mount-service; and in the production area, as weaned animals, initiation and finalization. In each farm ten animals were randomly selected from each stage.

Blood samples were obtained by puncture of the anterior vena cava using 21×1.5 " needles and Vacutainer tubes with capacity of 10mL, without anticoagulant. The collected samples were maintained in a container at 4°C and inclination of 45° to favor the formation of the clot during the trip from the farm to the Laboratory of Animal Biotechnology of the School of Veterinary Medicine of the Autonomous University of Nuevo Leon. Subsequently, each sample was centrifuged at $300 g$ for 15 minutes to obtain serum, and was put in Eppendorf tubes of 1.5 mL, previously identified. Sera were kept in storage at -20°C until the moment the serological test was to be done.

The immunoabsorbent assay test* was used bind to enzyme (ELISA), which is of indirect type and is based on measurement of antibodies IgG of the PRRS virus of European and American strains in porcine serum. The presence or absence of antibodies against PRRS was determined by the diagnostic value known as S/P, which is the ratio of the optic density value of the sample between the optic density of the positive control. When the S/P ratio was lower than 0.4, the sample was considered as negative; if the S/P ratio was equal or greater than 0.4, it was considered as positive.² Sensitivity of 91% and specificity of 97% has been reported when comparing it to the immunoperoxidase test.

The results of the serum samples were used to

2002, donde no se practicaba la vacunación contra PRRS. Las granjas se identificaron como A, B, C, D y E, tres se encuentran en los municipios de Agua-leguas, Dr. González, Pesquería y dos en Sabinas Hidalgo, Nuevo León. Aunque no se realizaron registros de los signos clínicos en las granjas ni de los registros productivos, se observó que con frecuencia las cerdas repetían estro, que las crías nacían débiles y posteriormente fallecían. De cada granja se tomaron muestras de sangre de 60 animales seleccionados al azar, para un total de 300 animales muestreados. Con el propósito de determinar el número de animales a muestrear en cada granja, se consideró una prevalencia de 20%, nivel de confianza de 95% y precisión de 10% con la fórmula:⁴

$$n = \frac{z^2 \times p \times q}{d^2}$$

donde:

$z = 1.96$ (valor de tabla de la distribución normal estándar con 95% de confianza)

$p =$ prevalencia esperada de seropositivos

$q = 1-p$ (prevalencia esperada de seronegativos)

$d =$ precisión deseada.

La población animal en cada granja variaba de 300 a 600 cerdas, para el presente estudio se dividió en área de reproducción y área de producción. En la primera, los animales se clasificaron en tres etapas: gestantes, lactando y monta-servicio; y en el área de producción, como animales destetados, iniciación y finalización. En cada granja se seleccionaron diez animales de cada etapa de manera aleatoria.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción de la vena cava anterior al usar agujas de 21×1.5 " y tubos Vacutainer con capacidad de 10 mL, sin anticoagulante. Las muestras recolectadas se mantuvieron en un contenedor a 4°C e inclinación de 45° para favorecer la formación de coágulo durante el traslado de la granja al Laboratorio de Biotecnología Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Posteriormente, cada muestra se centrifugó a $300 g$ durante 15 minutos para obtener el suero, y se colocó en tubos Eppendorf de 1.5 mL, previamente identificados. Los sueros se almacenaron a -20°C hasta el momento de realizar la prueba serológica.

Se utilizó la prueba de ensayo inmunoabsorbente* ligado a enzima (ELISA), que es de tipo indirecto y se basa en la medición de anticuerpos IgG del virus del PRRS de cepas europeas y americanas en suero porcino. La presencia o ausencia de anticuerpos

Herd Check PRRS, INDEX Estados Unidos de América.

assess the apparent prevalence, which was adjusted by the sensitivity and specificity to obtain the true prevalence. The apparent (p_a) and true (p) prevalences in the farm were assessed with the formulas:

$$P_a = \frac{a}{n} \quad \text{and} \quad p = \frac{P_a + S_p - I}{S_p + S_e - I}$$

where:

a = total number of seropositive animals in each farm;

n = number of sampled animals;

Sp = ELISA test specificity;

Se = test sensitivity.

To measure the association degree between farms or production stages and the seropositivity of the animals to the PRRS virus, chi-square tests were done. Likewise, probability ratios (OR) were obtained for the different areas and stages of production.

Differences of seroprevalence to PRRS virus among farms was found with a range of 6.7% to 45% (Table 1). Differences in seroprevalence of the farms are mainly due to management and biosecurity factors. In infectious diseases, it is common to find seroprevalence difference among farms, this is one of the greatest sources of variance between results of observation studies. In one study similar to the present, done in 37 farms in Yucatan, Mexico, it was found that 100% of the farms were positive with seroprevalences to the PRRS virus within farms of 3% and 97%.³ In the United States of America, a study reported that 59% of 217 herds were infected with PRRS virus.⁶ Among the risk factors for the introduction of PRRS virus to the herd it is considered: the entry of infected animals or unknown health status without having been in quarantine, the use of contaminated semen and the distance between farms.⁷⁻¹⁰ The partial depopulation of the shed is a factor that promotes contact with animals of different ages and a risk factor in virus dissemination.¹¹ The fact of keeping underdeveloped pigs and later mixing them with the new entry ones is a practice which increases the risk of viral dissemination among pigs of different ages.¹

The individual apparent seroprevalence of the five farms was of 27.7%, and the true seroprevalence, of 31.4%, which are lower to the notified (53%, 658/1 230) in 11 states of Mexico,¹² and in Yucatan³ was of 51%; 1 776/3 449. The results of this study and the ones notified in the literature suggest that the PRRS disease is highly contagious and is widely spread in Mexico.

Greater prevalence of seropositive animals to PRRS virus was found in the production area, in comparison to the reproduction area ($P < 0.05$). The stage with

contra el virus del PRRS se determinó con el valor diagnóstico conocido como S/P, que es la razón del valor de densidad óptica de la muestra entre la densidad óptica del testigo positivo. Cuando la razón S/P fue menor a 0.4, la muestra se consideró negativa; si la razón S/P fue igual o mayor a 0.4, se consideró positiva.² Se ha notificado sensibilidad de 91% y especificidad de 97% al compararla con la prueba de inmunoperoxidasa.

Los resultados de las muestras de suero se usaron para estimar la prevalencia aparente, que fue ajustada por la sensibilidad y especificidad para obtener la prevalencia verdadera. Las prevalencias aparente (p_a) y verdadera (p) dentro de la granja se estimaron con las fórmulas:⁵

$$P_a = \frac{a}{n} \quad \text{y} \quad p = \frac{P_a + S_p - I}{S_p + S_e - I}$$

donde:

a = número total de animales seropositivos en cada granja;

n = número de animales muestreados;

Sp = especificidad de la prueba de ELISA;

Se = sensibilidad de la prueba.

Para medir el grado de asociación entre granjas o etapas de producción y la seropositivity de los animales al virus del PRRS, se realizaron pruebas de Ji-cuadrada. Asimismo, se obtuvieron razones de probabilidades (OR) para las diferentes áreas y etapas de producción.

Se encontró diferencia entre granjas en la seroprevalencia al virus del PRRS, con rango de 6.7% a 45% (Cuadro 1). Las diferencias en la seroprevalencia de las granjas se deben principalmente a factores de manejo y bioseguridad. En enfermedades infecciosas es común encontrar diferencia en la seroprevalencia entre granjas, ésta es una de las mayores fuentes de variación entre resultados de estudios de observación. En un estudio similar al presente, realizado en 37 granjas de Yucatán, se encontró que 100% de las granjas fueron positivas con seroprevalencias al virus del PRRS dentro de granjas de 3% a 97%.³ En Estados Unidos de América, un estudio notificó que 59% de 217 hatos estaban infectados con el virus del PRRS.⁶ Entre los factores de riesgo para la introducción del virus del PRRS al hato se consideran: el ingreso de animales infectados o de estatus sanitario desconocido sin que hayan estado en cuarentena, el uso de semen contaminado y la distancia entre las granjas.⁷⁻¹⁰ La despoblación parcial de la nave es un factor que promueve el contacto con animales de diferentes edades y es un factor de riesgo en la diseminación del virus.¹¹ El hecho de mantener cerdos retrasados y

higher seroprevalence corresponded to the finishing stage, with 56% (28/50), followed by the initial stage, 36% (Table 2). The risk of seropositivity to PRRS was 2.19 times greater for the animals in the production area, in contrast to the reproduction area. Therefore, better biosecurity and management measures in the production area should be implemented and avoid mixing animals of different ages, with the aim to control and reduce the infection in the herd.

These results coincide with the ones obtained in Yucatan,³ where it has been seen that growing stage is the one with the highest seroprevalence (56%; 304/545). Diaz,¹³ at the same time, found greater circulation of PRRS virus in the line of production of the northeast and central part of the country. According to Benfield *et al.*,⁴ dissemination is of 80% to 100% in weanlings, maybe due to the loss of protection of maternal antibodies and because, at the weaning moment, they are mixed with susceptible and infected animals. Williams *et al.*,³ reported 42% (238/566) of seropositive sera to PRRS virus in the weaning stage.

luego mezclarlos con los de nuevo ingreso es una práctica que incrementa el riesgo de diseminación viral entre cerdos de diferentes edades.¹

La seroprevalencia aparente individual de las cinco granjas fue 27.7%, y la seroprevalencia verdadera, de 31.4%, que son menores a la notificada (53%; 658/1230) en 11 estados de México,¹² y en Yucatán³ fue de 51%; 1 776/3 449. Los resultados de este estudio y los notificados en la literatura sugieren que la enfermedad del PRRS es altamente contagiosa y que se encuentra muy difundida en México.

Se encontró mayor prevalencia de animales seropositivos al virus de PRRS en el área de producción, en comparación con el área de reproducción ($P < 0.05$). La etapa con más alta seroprevalencia correspondió a la de finalización, con 56% (28/50), seguida de la etapa de inicio, 36% (Cuadro 2). El riesgo de seropositivity al PRRS fue 2.19 veces mayor para los animales en el área de producción, en comparación con el área de reproducción. Por tanto, deberían instrumentarse mejores medidas de bioseguridad y de manejo en el

Cuadro 1

PREVALENCIA DE PRRS EN CINCO GRANJAS PORCINAS DE NUEVO LEÓN, MÉXICO
PREVALENCE OF PRRS IN FIVE PORCINE FARMS OF NUEVO LEON, MEXICO

Farm	Animals		Prevalence (%)
	Positives	Negatives	
A	17	43	28.3 ^b
B	4	56	6.7 ^a
C	8	52	13.3 ^a
D	27	33	45.0 ^b
E	27	33	45.0 ^b
Total	83	217	27.7

^{a, b, c} Prevalence with different letters were different according to the chi-square test ($P < 0.05$).

Cuadro 2

PREVALENCIA DE PRRS POR ETAPA DE PRODUCCIÓN EN CINCO GRANJAS PORCINAS DE NUEVO LEÓN, MÉXICO
PREVALENCE OF PRRS BY STAGE OF PRODUCTION IN FIVE PORCINE FARMS OF NUEVO LEON, MEXICO

Stage	Positives	Negatives	Prevalence (%)
Weaning	7	43	14.0 ^{ab}
Initiation	18	32	36.0 ^c
Finishing	28	22	56.0 ^c
Pregnancy	13	37	26.0 ^{bc}
Lactation	5	45	10.0 ^a
Mating/Service	12	38	24.0 ^{ab}

^{a, b, c} Prevalence with different letters were different according to the chi-square test ($P < 0.05$).

These results do not coincide with the prevalence of 14% (7/50) in the weaning stage found in this study. Differences to the respect could be due to management conditions, population density and to the size of the sample. Likewise, 20% (30/150) of seropositive animals in the reproduction area, found in this study, does not coincide with the reported in Yucatan,³ where 52% (1 043/2 012) of breed stock infected with PRRS virus was recorded. In breed stock infection commonly occurs in 100% of the animals, but gradually, as groups of susceptible animals are mix with infected animals that are shedding virus.¹

This last allows to establish the viral circulation within the herd by prolonged periods, which causes endemic herds. The formation of infected herds that carry the virus towards the lactation stage is due to the capacity of the PRRS virus to cause persistent infection and vertical and horizontally dissemination from infected sows, to the uterus as well as the descendants before weaning.¹⁵ The sows that are infected in the final stage of pregnancy can infect their newborns by transplacental, which causes persistent infected animal births.¹⁴ Also, the PRRS virus can be eliminated throughout colostrum and milk.¹⁶

In conclusion, presence of seroreactive pigs to porcine respiratory and reproductive syndrome virus was detected in all production stages. Future studies should be aimed to isolation and identification of PRRS viral strains in the studied region.

Acknowledgements

Special thanks for the economic support provided for project PAICYT-UANL-SA-585-01.

Referencias

1. Zimmerman JJ, Yoon KJ, Stevenson G, Dee SA. The 1998 PRRS compendium: A comprehensive reference on porcine reproductive and respiratory syndrome for pork producers, veterinary practitioners, and researchers. Des Moines IA: National Pork Producers Council and the National Pork Board, 1998.
2. Weirmersheimer J, Coba MA, Anaya, AM, Correa GP, Cantú J. Avances del estudio seroepidemiológico nacional para detectar en México anticuerpos contra el Síndrome Disgénésico y Respiratorio del Cerdo (PRRS). *Vet Méx* 1995; 26: 135.
3. Williams JJ, Alzina-López A, Barroso-Martínez GI. Identificación de factores de riesgo asociados a la exposición al virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino en granjas del estado de Yucatán. *Vet Méx* 2002; 33: 363-369.
4. Segura JC, Honhold N. Métodos de Muestreo para la Producción y Salud Animal. Mérida (Yucatán) México: Universidad Autónoma de Yucatán, 2000.
5. Martin SW, Meek HA, Willeberg P. Veterinary Epide-

ología de producción, y evitar el mezclado de animales de diferentes edades, con el fin de controlar y reducir la infección en la piara.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en Yucatán,³ donde se ha visto que la etapa de engorda es la de mayor seroprevalencia (56%; 304/545). Díaz,¹³ a su vez, encontró mayor circulación del virus del PRRS en la línea de producción en el noreste y centro del país. Según Benfield *et al.*,⁴ en lechones destetados la diseminación es de 80% a 100%, quizá debido a la pérdida de protección por los anticuerpos maternos y porque en el momento del destete se mezclan con animales susceptibles e infectados. Williams *et al.*³ notificaron 42% (238/566) de sueros seropositivos al virus del PRRS en la etapa de destete. Esos resultados no coinciden con la prevalencia de 14% (7/50) en la etapa de destete encontrada en este estudio. Diferencias al respecto pueden deberse a condiciones de manejo, densidad poblacional y al tamaño de la muestra. Asimismo, 20% (30/150) de animales seropositivos en el área de reproducción, encontrado en este estudio, no coincide con lo notificado en Yucatán,³ donde se registró 52% (1 043/2 012) del pie de cría infectado con el virus del PRRS. En el pie de cría la infección ocurre comúnmente en 100% de los animales, pero de manera paulatina, conforme grupos de animales susceptibles se mezclan con animales infectados que están eliminando el virus.¹ Esto último permite establecer la circulación viral dentro del hato por periodos prolongados, lo que ocasiona hatos endémicos. La formación de camadas infectadas que portan el virus hacia la etapa de lactancia se debe a la capacidad del virus del PRRS para ocasionar infección persistente y diseminarse de manera vertical y horizontal a partir de las hembras infectadas, tanto hacia el útero como a la descendencia antes del destete.¹⁵ Las cerdas que se infectan en la fase final de la gestación pueden infectar a sus crías de manera transplacentaria, lo cual propicia el nacimiento de animales persistentemente infectados.¹⁴ Además, el virus del PRRS puede ser eliminado a través del calostro y la leche.¹⁶

En conclusión, se detectó presencia de cerdos serorreectores al virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino en todas las etapas de producción. Futuros trabajos deberán dirigirse al aislamiento e identificación de las cepas virales de PRRS en la región de estudio.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo económico proporcionado para el proyecto PAICYT-UANL-SA-585-01.

- miology. Principles and Methods. Ames, Iowa: University Press, 1987.
6. National Animal Health Monitoring System. Prevalence of PRRS virus in the United States. Centers for Epidemiology and Animal Health. United States Department of Agriculture: Animal Plant Health Inspection Service. Fort Collins, Colorado, United States of America: Center for Epidemiology and Animal health, [serial online]1995 (cited: 2004 June 10). Available from: <http://www.aphisweb.aphis.usda.gov/vs/ceah/cahm/swine/sw95pr2.htm>
 7. Albina E. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): An overview. *Vet Microbiol* 1997; 55: 309-316.
 8. Le Potier MF, Blaquefort P, Morvan E, Albina E. Results of a control programme for the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome in the French "Pays de la Loire" region. *Vet Microbiol* 1997; 55: 355-360.
 9. Mortensen S, Stryhn H, Sogaard R, Bocklund A, Stark K, Christensen J *et al.* Analysis of risk factors for infection of sow herds with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus. Proceedings of the 16th International Pig Veterinary Society Congress, 2000 September 17-20, Melbourne, Australia: Melbourne (Australia): International Pig Veterinary Society 2000: 603
 10. Mousing J, Permin A, Mortensen S, Botner A, Willeberg P. A case control questionnaire survey of risk factors for porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) seropositivity in Danish swine herds. *Vet Microbiol* 1997;55: 323-328
 11. Sanford SE. Production of PRRS seronegative pigs from vaccinated stable PRRS-Positive Sow-Herd. Proceedings of the 16th International Pig Veterinary Society Congress; 2000 September 17-20, Melbourne, Australia: Melbourne (Australia): International Pig Veterinary Society 2000: 589
 12. Carreón NR, Ramírez MH, Mercado GC, Soto M. Detección de anticuerpos contra el Síndrome Respiratorio y Reproductivo del Cerdo en diferentes estados de la República Mexicana. Memorias XXXIV Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 1999. Julio 28-31; Mérida (Yucatán) México. México (DF): Asociación Mexicana de Especialistas en Cerdos, 1999:168-169.
 13. Díaz E. Evaluación clínica y serológica de la infección por el virus de PRRS. *Los Porcicultores y su Entorno* 2001; 22: 88-92.
 14. Benfield DA, Collins J, Dee S, Halbur PG, Joo HS, Lager KM *et al.* Porcine reproductive and respiratory syndrome. In: B Straw, S Dállaire, WL Mengeling, DJ Taylor, editors. *Diseases of swine*. 8th ed. Ames (Iowa), Iowa State University Press, 1999: 201-232.
 15. Dee SA, Otakes S, Rossow KD, Deen J, Pijoan C, Moltor TW. Experiencias con PRRSV en la Universidad de Minnesota. *Cerdos-Swine* 2001; 49: 56-57.
 16. Wagstrom EA, Chang CC, Yoon KJ, Zimmerman JJ. Shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in mammary secretions of sows. *Am J Vet Res* 2000; 62:1876-1880.