PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON EL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO EN SEMENTALES DE GRANJAS PORCINAS EN EL SURESTE DE MÉXICO

Prevalence and Risk Factors Associated With the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in Boars of Pig Farms at the Southeastern Mexico

Ada Rovelo Celorio, Alejandro Alzina López, Jorge Carlos Rodríguez Buenfil, José Candelario Segura Correa y Sandra Villegas Pérez

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Km 15.5 Carretera Mérida-X'matkuil, Apdo. Postal 4-116 Itzimná, CP 97100, Mérida, Yucatán. Tel. (999) 9 42-32-00 ext. 32. Fax: 942-32-05. E-mail: alzina@uady.mx.

RESUMEN

Los objetivos de este estudio fueron estimar la prevalencia y determinar algunos factores de riesgo asociados con el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS) en sementales de granjas porcinas de Yucatán, México. El estudio se realizó en 30 granjas con 28 a 2.000 vientres y con diferentes niveles de tecnificación. Los verracos al llegar a la granja fueron sometidos a un periodo de adaptación al manejo y al estatus sanitario. En las granjas se empleaba la monta natural, la inseminación artificial o ambas técnicas. La alimentación de los verracos consistió en alimento comercial. Se realizó un estudio transversal por conglomerados desde septiembre 2005 hasta febrero 2006, muestreándose 170 verracos. La presencia de anticuerpos y partículas virales se determinó mediante las pruebas de ELISA y RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa- Transcriptasa Reversa), respectivamente. Cincuenta y seis verracos fueron positivos a la prueba de ELISA, 21 a la prueba de RT-PCR y 67 a una o ambas pruebas. La prevalencia en los verracos fue 39,4% (67/170) y dentro de granjas varió de 0 a 100%. Veintiún granjas tuvieron al menos un animal positivo a la prueba de ELISA, 13 a la prueba de RT-PCR y 25 a una o ambas pruebas. El riesgo de un animal positivo a PRRS fue 3,6 veces mayor en granjas positivas al virus de PRRS y 2,6 veces mayor en granjas donde no se realizaban pruebas diagnósticas antes de introducir los sementales. Las granjas que utilizaban sementales en la detección de celo tuvieron 7,0 veces mayor riesgo de un verraco positivo al virus de PRRS.

Palabras clave: PRRS, verracos, factores de riesgo.

Recibido: 10 / 12 / 2008. Aceptado: 20 / 02 / 2009.

ABSTRACT

The objectives of this study were to estimate the prevalence of and to determine some risk factors associated with the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) virus in boars from pig farms in Yucatan, Mexico. The study was carried out in 30 farms with 28 to 2,000 sows and different levels of technology. On arrival, boars were kept for an adaptation period to the farm conditions and management. Natural mating, artificial insemination or both techniques were used. Commercial feed was provided to the boars. A cluster crosssectional study was carried out from September 2005 to February 2006, and 170 boars were sampled. The presence of antibodies and virus particles was determined using ELISA and RT-PCR (Reverse transcriptase- polymerase chain reaction) tests respectively. Fifty six out of 170 boars were positive to ELISA test, 21 to RT-PCR and 67 to one or both tests. Boar prevalence was 39.4% (67/170) and within farm varied from 0 to 100%. Twenty one farms (70%) had at least one ELISA positive animal, 13 positives to RT-PCR test (43.3%) and 25 (83.3%) to one or both tests. The risk of a PRRS virus positive boar was 3.6 times greater in the positive farms and 2.6 when no diagnostic tests were carried out before introducing the boar to the farm. Farms using the boars for estrus detection had 7.0 times greater risk of a PRRS virus seropositive boar.

Key words: PRRS, boar, risk factor.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS) es una enfermedad viral que se caracteriza por signos respiratorios en animales de todas las edades, aumento en las

repeticiones de celo en hembras, aborto tardío y disminución de la fertilidad; incremento de cerdos (*Sus scrofa*) momificados, nacidos muertos y débiles, y alta mortalidad de lechones durante la lactancia [4].

La enfermedad es causada por un virus ARN de cadena sencilla, perteneciente al orden *Nidovirales*, familia *Arteriviridae*, género *Arterivirus*, grupo Nidovirus [15]. En los EUA se ha descrito al PRRS como la enfermedad más devastadora en las explotaciones porcinas [20]. En las piaras, ocurre un desbalance en las infecciones por microorganismos primarios y secundarios, por lo que se manifiesta un incremento de enfermedades de diversa índole.

El uso extensivo de la inseminación artificial en las granjas porcinas ha facilitado el intercambio de características genéticas deseables; sin embargo, la diseminación de patógenos vía semen es un aspecto importante que se debe considerar al implementar un programa de salud animal [6].

El virus del PRRS afecta a cerdos de todas las edades, produciendo diversos signos clínicos de acuerdo a la edad y estado reproductivo. En el caso de los sementales puede presentarse disminución del apetito, fiebre, disminución de la libido y alteraciones en la calidad del semen, principalmente disminución de la motilidad, aumento en anormalidades, daño en acrosomas y un aumento en el porcentaje de eyaculados rechazados [6].

La transmisión del virus del PRRS mediante el semen de animales infectados implica un riesgo para las explotaciones porcinas, ya que los animales infectados eliminan el virus vía semen durante algunos periodos, principalmente durante la fase aguda de la enfermedad. Se ha notificado que la fase de eliminación del virus vía semen es muy variable entre los individuos, desde un mínimo de cuatro hasta 92 días postinfección [6]. También se ha notificado que la eliminación del virus en semen puede ser de forma intermitente y no necesariamente estar correlacionada con la viremia o el estatus serológico [6,15]. El grado de eliminación depende de la cepa viral, de las condiciones del medio ambiente, y de la cantidad de virus infectante [3].

En granjas porcinas de Yucatán, México, se encontró una seroprevalencia individual del 55% al virus del PRRS en la población de cerdos y 58% en los sementales [8]. En este mismo estudio se menciona que, el uso de reemplazos externos, el vaciado parcial de la granja y mantener animales de diferentes edades dentro de una nave, favorecen la presencia del virus en una granja. El PRRS es una de las enfermedades que causa mayores pérdidas a la industria porcina [5].

Se ha demostrado que el empleo de sementales portadores del virus de PRRS es un factor importante en la transmisión y diseminación de la enfermedad entre granjas y dentro de granja, debido a que el virus puede encontrarse en el semen [15]. Para llevar a cabo un programa de control del virus de PRRS en granjas porcinas es necesario conocer la prevalencia de sementales positivos al virus de PRRS y cuáles son los factores de riesgo asociados a su presencia.

Los objetivos de este estudio fueron: Estimar la prevalencia del virus de PRRS en suero de sementales y determinar algunos factores de riesgo asociados a la presencia del virus en granjas porcinas de Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y clima

El estudio se llevó a cabo en 30 granjas porcinas de Yucatán, localizado en el sureste de México. El clima de la región es tropical subhúmedo con lluvias en verano y rango de temperatura de 7 a 42°C, siendo la media de 26,6°C. La humedad relativa varía de 65 a 100% con un promedio de 78% y la precipitación anual varía de 415 a 1290 mm dependiendo del área. Los vientos predominantes son de norte a sureste [7].

Selección y descripción de las granjas

Las 30 granjas encuestadas fueron seleccionadas por conveniencia e interés de los productores por participar en la encuesta de las 105 granjas pertenecientes a la asociación de productores de cerdos del estado de Yucatán. Las granjas se localizaban en un área de alta densidad porcina y se consideraron representativas de la región centro del Estado. El número de vientres en las granjas encuestadas varió de 28 a 2.000 y el número de sementales por granja de 1 hasta 32. El nivel de tecnificación también varió entre granjas, el cual se encuentra en relación con el número de vientres. Se muestrearon todos los sementales que tuvieran al menos un mes de estancia en las granjas.

Manejo general de los sementales en las granjas

Los verracos al llegar a las granjas se sometieron a un periodo de adaptación al manejo y al estatus sanitario. En las granjas porcinas se manejan dos tipos de servicio reproductivo: la monta natural y la inseminación artificial. Algunas explotaciones manejan ambas opciones. La alimentación de los verracos consistía en el uso de dietas comerciales basadas en soya (*Glycine max L*) y sorgo (*sorghum vulgare*).

Diseño del estudio

Se realizó un muestreo por conglomerados en un diseño transversal desde septiembre 2005 hasta febrero 2006. El total de animales a muestrear (n=170 verracos) se calculó de acuerdo a la fórmula proporcionada por Segura y Honhold [13].

$$n_c = D\left(\frac{n}{1 + n/N}\right)$$

donde

 $n = \frac{Z^2 pq}{d^2}$ = tamaño de muestra para el muestreo simple para una población infinita; N = 735 (número estimado de verracos en las 105 granjas porcinas pertenecientes a la asociación de

porcicultores de Yucatán); Z=1,96 valor de tablas de la distribución de Z con un 95% de confianza; d=0,10 precisión o error deseado; D=2, efecto de diseño; P=0,50, prevalencia individual esperada; q=1-p; $n_c=170$, número de verracos a muestrear. Dado que el efecto de diseño se desconocía a principios del estudio, por conveniencia se tomó el valor de Z=10. El número de granjas a visitar (n=30) se obtuvo dividiendo Z=10. Tre el número promedio de cerdos por granja (k=5,5).

Obtención y procesamiento de muestras

Las muestras sanguíneas se obtuvieron de la vena cava anterior utilizando tubos estériles al vacío de 10 mL y agujas 21 x 1½ mm. Las muestras de sangre se conservaron a temperatura ambiente aproximadamente por una hora, y posteriormente se transportaron con temperatura de refrigeración al laboratorio de Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, donde se centrifugaron a 600 g x 10 minutos en centrifugadora Damon (Modelo DPR 6000, Damon/IEC División, EUA). Posteriormente, los sueros se transfirieron a tubos de microcentrifugadora de 1,5 mL por duplicado, previamente identificados, y se conservaron en un congelador (marca VWR, modelo 5700; VWR Sales group, EUA) a -70°C hasta su análisis.

Prueba serológica

La prueba de ELISA indirecta se realizó empleando el kit HerdChek*PRRS 2XR (IDEXX Laboratorios Inc. Westbrook, Maine, EUA), siguiendo las instrucciones especificadas por el fabricante para detectar la presencia de anticuerpos contra el virus del PRRS en el suero porcino. La presencia o ausencia de anticuerpos contra el virus de PRRS se determinó con el valor diagnóstico conocido como S/P, el cual 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 como negativa; si la razón S/P fue igual o mayor a 0,4 se consideró como positiva (según indicaciones del fabricante).

Extracción del ARN y Prueba de RT-PCR.

Para la extracción del ARN viral de las muestras de suero, se utilizó el Kit QIAamp Viral RNA Mini Kit de los laboratorios QIAGEN Inc., EUA. El ARN viral fue recuperado según las indicaciones del fabricante con búfer de elución y almacenado a -70°C. Para las pruebas de PCR se utilizó el kit comercial OneStep RT-PCR QIAGEN, siguiendo las instrucciones del fabricante y utilizando 8 μL del ARN extraído en un volumen total de 50 μL de la mezcla (master mix). Los iniciadores que se utilizaron fueron del marco de lectura abierta 7 (ORF7) derivados de la secuencia del VR-2332 PRRSV y sintetizados por la compañía Accesorios para Laboratorios, S.A. de C.V. México DF. Para la amplificación en RT-PCR se utilizó el iniciador de sentido (forward) 5'-TCGTGTTGGGTGGCAGAAAAGC-3' (nucleótidos 2763 a 2785) y el iniciador antisentido (reverse) 5'-GCCATTCACCACACATTCTTCC-3'. Los productos amplifica-

dos de 482 pb fueron visualizados en geles de agarosa al 2% y teñidos con bromuro de etidio.

Prevalencia y factores de riesgo

Un caso se definió como aquel cerdo positivo a la prueba de ELISA o RT-PCR. La prevalencia se estimó como el número de verracos positivos entre el total de verracos muestreados. Se aplicó un cuestionario para determinar posibles factores de riesgo asociados al virus de PRRS en sementales porcinos. El cuestionario incluyó los datos generales de cada granja así como preguntas asociadas a la población animal y a la bioseguridad.

La información sobre la positividad de los verracos se utilizó para el estudio de los factores de riesgo, el cual se realizó en dos etapas: 1) Se corrieron pruebas de Ji-cuadrado para la positividad a PRRS con cada uno de los factores de riesgo. 2) Los factores de riesgo que resultaron significativos (P<0,20) a la prueba de Ji-cuadrado se incluyeron en un análisis de regresión logística marginal (ajustado por hato) multivariado. Este modelo consideró el efecto de la correlación entre verracos dentro de granja y para ello se utilizó el procedimiento GENMOD [12]. El modelo de regresión logística marginal se especificó por la distribución binomial y la función de ligue logit. Las razones de momios (OR) ajustados y errores estándares se obtuvieron mediante el método de ecuaciones generalizadas estimadas usando una matriz de correlaciones de simetría compuesta entre observaciones dentro de una misma granja.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prevalencia

Cincuenta y seis animales de los 170 sementales fueron positivos a la prueba de ELISA, 21 fueron positivos a la prueba de RT-PCR y 67 sementales resultaron positivos a una o ambas pruebas. La prevalencia encontrada al virus de PRRS en sementales de las granjas porcinas fue 40,6% (67/170). Veinticinco de las treinta granjas muestreadas (83,33%) tuvieron al menos un semental positivo al virus de PRRS. La prevalencia encontrada en este estudio (40,6%) es menor que la notificada en la misma región por otros autores [8], quienes mencionan prevalencias en sementales del 58 y 55% de animales positivos en todas las edades y etapas del ciclo productivo. En Guanajuato, Puebla, México, Sonora y Veracruz, se obtuvo una seroprevalencia global del 62,2% en cerdos de todas las edades [14]. La seroprevalencia en el presente trabajo es menor, debido posiblemente, a un control en las granjas donde se realizan pruebas diagnósticas y se eliminan los sementales que resulten positivos.

Estudios realizados en México mencionan, del 78 al 100% de hatos positivos al virus del PRRS [8,14]. En el presente estudio sólo se muestrearon a los sementales y se encontró que el 83% de las granjas tienen al menos un semental positivo; sin embargo, no se puede inferir que las otras granjas

se encuentre libres de la enfermedad, ya que no se colectaron muestras de otros segmentos de la población como las hembras reproductoras, lechones, engorda, etc., donde podría estar presente el virus.

Los sementales en granjas porcinas se encuentran expuestos a la enfermedad debido a que están en constante contacto con las hembras, principalmente cuando se les utiliza para detectar celos y/o en monta natural. Por otra parte, un semental infectado pone en riesgo a todas las hembras con las que tiene contacto, además el PRRS puede transmitirse por semen y por lo tanto, pone en riesgo también a las hembras inseminadas artificialmente.

Factores de riesgo

Los nueve factores de riesgo estudiados se presentan en la TABLA I. Las pruebas de Ji cuadrado indicaron que de los nueve factores, sólo cinco fueron significativos (P<0,20): Conocer si la granja es positiva a PRRS, no realizar pruebas diagnósticas antes de ingresar los sementales a la granja, no realizar pruebas diagnósticas periódicamente, no cuarentenar a los sementales y utilizar los sementales para detección de celo. Pero en el modelo de regresión logística marginal sólo tres factores resultaron significativos (P<0,05): granja positiva a PRRS, no realizar pruebas diagnósticas antes de ingresar los sementales a la granja y utilizar a los sementales para la detección de celo (TABLA II). Los sementales en granjas positivas presentaron 3,6 veces más riesgo de infección que aquellos que se encontraban en granjas identificadas como negativas al PRRS. Esto se debe a que los sementales se encuentran a poca distancia (dentro de la misma granja) del resto del hato y entran en contacto con las hembras para la monta o para detección de celo lo cual aumenta el riesgo de infección. Por otro lado, los sementales en granjas negativas están en menor riesgo ya que no entran en contacto directo con animales infectados. Algunos autores [9,16,18] mencionan que el uso de sementales positivos o de semen proveniente de sementales positivos es un factor de riesgo para la infección de hembras reproductoras, esto debido a que cualquier animal positivo dentro de una granja representa un riesgo para el resto del hato, tanto los sementales para las hembras como las hembras, hacia los sementales. Aunque se debe tomar en cuenta que el riesgo que presentan los sementales puede ser mucho más importante debido a la inseminación artificial, poniendo en riesgo a gran cantidad de hembras. En las 30 granjas muestreadas se tiene una población de 7.816 vientres, de las cuales 7.051 se encuentran en las 25 granjas con sementales positivos, además si el semen de animales infectados se utiliza para inseminar hembras de otras granjas se aumenta el número de hembras en riesgo.

Otro factor de riesgo identificado fue: no realizar pruebas diagnósticas antes de introducir los sementales a la granja, ya que el realizar pruebas diagnósticas disminuye las probabilidades de infección (OR=0,39). Es importante realizar muestreos para prevenir la introducción de animales en periodo de incu-

bación, en fase latente o con enfermedad subclínica a la granja. Weigel y col. [16] y Mousing y col. [10] mencionan que el introducir animales de reemplazo es un factor de riesgo para la presencia de la enfermedad, lo cual demuestra la importancia de realizar pruebas diagnósticas para asegurase que los animales se encuentren sanos.

Utilizar a los sementales para la detección del celo es el factor de riesgo detectado más importante, representando 7,0 veces más probabilidades de infección comparada con aquellas granjas donde no se emplea a los sementales para identificar a las hembras en celo. Esta práctica pone en riesgo a los sementales, ya que entran en contacto directo con las hembras que pueden ser positivas al virus de PRRS. El virus del PRRS se transmite principalmente por medio del contacto directo entre un animal enfermo y uno susceptible, probablemente por contacto nariz-nariz o por contacto con orina y/o heces infectadas [1, 2, 11]. Los animales infectados pueden eliminar el virus del PRRS en saliva hasta 42 días postinfección [17], en secreciones nasales hasta 38 días postinfección, en orina 28 días postinfección [11] y en heces hasta 35 días postinfección [19], por lo que el riesgo de infección al juntar animales susceptibles con animales enfermos es alto.

Los factores: no realizar pruebas diagnósticas periódicamente y no cuarentenar a los sementales, fueron estadísticamente significativos (P<0,05) en el estudio de regresión logística estándar pero no en el de regresión logística marginal. Sin embargo, las pruebas diagnósticas periódicas son importantes para conocer el estado sanitario de la granja y de esta manera poder detectar un brote a tiempo y tomar las medidas de control necesarias. Por otro lado, el cuarentenar a los animales antes de introducirlos a la granja es una medida de bioseguridad importante para una explotación porcina, ya que los animales pueden llegar en fase de incubación y salir negativos en las pruebas diagnósticas pero presentar la enfermedad más adelante. El no aislar a los animales después de la compra incrementa 3,3 veces más las posibilidades de infección en la granja si no se toma esta medida [16].

El empleo de inseminación artificial ha sido notificado como un factor de riesgo para la infección de los vientres en una granja porcina [16], encontrándose que la compra de dosis de semen para inseminación representa un riesgo (OR=2,2) para la infección en el hato reproductor. Sin embargo, esto no representa un riesgo para los sementales, ya que por medio de la colecta de semen para la inseminación artificial no tienen contacto directo con animales infectados. Otra variable estudiada fue la frecuencia de reemplazo de los sementales, la cual no resultó significativa. Aunque la entrada de animales nuevos a la granja esté relacionada con la presentación de enfermedades, si se tienen las medidas de bioseguridad adecuadas, esto puede prevenirse. La frecuencia con que se reemplacen los sementales no es tan importante como el realizar pruebas diagnósticas y cuarentenar antes de introducirlos a la granja. Contar con personal exclusivo para el área de sementales y el origen de los sementales (local, nacional o

TABLA I

FACTORES DE RIESGO PARA ANTICUERPOS DE VERRACOS CONTRA PRRS EN 30 GRANJAS PORCINAS EN EL

SURESTE DE MÉXICO, MÉXICO/ RISK FACTORS FOR ANTIBODIES OF BOARS AGAINST PRRS IN 30 PIG FARMS IN SOUTHEASTERN MEXICO.

	_	Verracos			_
Factor de riesgo	Granjas	Total	Positivos	%	P ^b
¿Es la granja positiva a PRRS?* ^a					
No	12	75	22	29,33	0,0079
Sí	18	95	47	49,47	
¿Realiza pruebas diagnósticas antes de introduc	ir los sementales a la gra	nja?* ^a			
No	18	80	39	48,75	0,0410
Sí	12	90	30	33,33	
¿Realiza pruebas diagnósticas para PRRS perió	dicamente?*				
No	8	51	26	50,98	0,0147
Cada 6 meses	10	42	21	50,00	
Cada año	12	77	22	28,57	
¿Cuarentena a los sementales?*					
No	9	28	18	64,29	0,0052
Sí	21	142	51	35,92	
¿Utiliza los sementales para detectar celos?**					
No	7	26	5	19,23	0,0160
Sí	23	144	64	44,44	
¿Servicio reproductivo que utiliza?					
Monta natural	5	49	20	40,82	0,7929
Inseminación artificial	16	88	34	38,64	
Ambas	9	33	15	45,45	
¿Cada cuando reemplaza a los sementales?					
Cada 1 ó 2 años	16	75	34	45,33	0,2630
Cada 3 años	14	95	35	36,84	
¿El personal es exclusivo del área de sementale	s?				
No	17	78	32	41,03	0,9148
Sí	13	92	37	40,22	
¿Cuál es el origen de sus sementales?					
Local	7	29	10	34,48	0,2493
Estados Unidos	9	93	35	37,63	
Nacional	13	43	22	51,16	

^{*}Factores incluidos en el modelo de regresión logística estándar. ^aFactores incluidos en el modelo de regresión logística marginal. ^bValores de P de la prueba de Ji-cuadrado.

internacional) no son variables significativas para la presentación del PRRS en sementales de granjas porcinas de acuerdo a lo encontrado en este estudio.

CONCLUSIONES

El virus del PRRS se encuentra presente en los sementales de las granjas porcinas del estado de Yucatán con una prevalencia de 40,6%. El 83,3% de las granjas muestreadas presenta al menos un semental positivo a esta enfermedad. El riesgo de que un semental sea positivo se incrementa al utilizarlo para la detección de celo (OR =7,0), en granjas positivas a la enfermedad (OR=3,6) y en las granjas donde no se realizan pruebas diagnósticas a los cerdos que ingresan (OR=0,39).

TABLA II

PARÁMETROS ESTIMADOS DE LA REGRESIÓN LOGÍSTICA MARGINAL PARA ALGUNOS FACTORES

DE RIESGO ASOCIADOS A PRRS/ ESTIMATED PARAMETERS OF THE MARGINAL LOGISTIC REGRESSION

FOR SOME RISK FACTORS ASSOCIATED TO PRRS.

	Coeficientes	Error estándar	OR	IC95%	Р
Granja positiva a PRRS					
No	0	0	1		0,0063
Sí	1,268	0,464	3,55	1,43;8,82	
Realiza pruebas diagnosticas	cuando introduce semer	ntales			
No	0	0	1		0,0310
Sí	-0,944	0,438	0,39	0,16;0,92	
Utiliza los sementales para la	detección de celos				
No	0	0	1		0,0001
Sí	1,948	0,453	7,01	2,88;17,04	

Intercepto = -2.20 ± 0.60 ; Deviance = 203,7; grados de libertad = 166.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALBINA, E. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview. Vet. Microbiol. 55:309-316. 1997.
- [2] CINTA-PRIETO, J.M.C. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in the boar: a review. **Theriogenol.** 63:1-16. 2005.
- [3] CHRISTOPHER-HENNINGS, J.; NELSON, A.E.; NELSON, K.J.; HINES, J.R.; SWENSON, L.S.; HILL, T.H. ZIMMERMAN, J.J.; KATZ, B.J.; YAEGER, J.M.; CHASE, L.C.; BENFIELD, A.D. Detection of porcine and reproductive and respiratory syndrome virus in boar semen by PCR. J. Clin. Microbiol. 33: 1730- 1734. 1995.
- [4] COLLINS, J.E.; BENFIELD, D.A.; CHRISTIANSON, W.; HARRIS, L.; CHRISTOPHER-HENNINGS, J.; SHAW, D.P.; GOYAL, S.M.; MCCULLOUGH, S.; MORRISON, R.B.; JOO, H.S.; GORCYCA, D.; CHLADEK, D. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus Isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. J. Vet. Diag. Invest. 11: 117-119. 1992.
- [5] DOPORTO, J.M.; PONCE, E.; MENDOZA G.R. Control of PRRSV by multiple vaccination and segregation of population. Proceedings of the 19th International Pig Veterinary Society Congress, International Pig Veterinary Society. Copenhagen Denmark, July 16-19 DK. 61 pp. 2006.
- [6] GUÉRIN, B.; POZZI, N. Viruses in boar semen: detection and clinical as well as epidemiological consequences regarding disease transmission by artificial insemination. Theriogenol. 63: 556-572. 2005.

- [7] INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, GEOGRA-FÍA E INFORMÁTICA (INEGI). Anuario estadístico de Yucatán. México, DF: 240 pp. 2004.
- [8] MARTÍNEZ-BARROSO, G.; WILLIAMS, J.J.; ALZINA-LÓPEZ, A. Identificación de factores de riesgo asociados a la exposición al virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino dentro de granjas porcinas del estado de Yucatán, México. Vet. Mex. 33(4):363-369. 2002.
- [9] MORTENSEN, S.; STRYHN, H.; SØGAARD, R.; BOK-LUND, A.; STÄRK, K.D.C.; CHRISTENSEN, J.; WILLE-BERG, P. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. Prev. Vet. Med. 53:83-101. 2002.
- [10] MOUSING, J.; PERMIN, A.; MORTENSEN, S.; BØT-NER, A.; WILLEBERG, P. A case-control questionnaire survey of risk factors for porcine reproductive and respiratory syndrome in Danish swine herds. Vet. Microbiol. 55: 323-328. 1997.
- [11] ROSSOW, K.D.; BAUTISTA, E.M.; GOYAL, S.M.; MO-LITOR, T.W.; MURTAUGH, M.P.; MORRISON, R.B.; BEN-FIELD, D.A.; COLLINS, J.E. Experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in one, four, and 10-week-old pigs. J. Vet. Diag. Inv. 6:3-12. 1994.
- [12] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS INSTITUTE (SAS). User's Guide Statistics, Cary, North Carolina. 646 pp. Versión 8,1. 2000.
- [13] SEGURA, J.C.; HONHOLD, N. Muestreo en múltiples etapas. En: Métodos de muestreo para la producción y la salud animal. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. México. 139 pp. 2000.
- [14] SIERRA, N.; RAMÍREZ, R.; MOTA, D.; AVILA, D. The first report of porcine reproductive and respiratory syn-

- drome (PRRS) virus isolation in Mexico. **Proceedings of the 15th International Pig Veterinary Society Congress,** International Pig Veterinary Society. Birmingham, England July 5-9. UK. 303 pp. 1998.
- [15] WASILK, A.; CALLAHAN, J.D.; CHRISTOPHER-HENNINGS, J.; GAY, T.A.; FANG, Y.; DAMMEN, M.; REOS, M.E.; TORREMORELL, M.; POLSON, D.; MELLENCAMP, M.; NELSON, E.; NELSON, W.M. Detection of U.S., Lelystad, and European-Like Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome viruses and relative quantification in boar semen and serum samples by Real-Time PCR. J. Clin. Microbiol. 42(10): 4453-4461. 2004.
- [16] WEIGEL, R.M; FIRKINS, L.D.; SCHERBA, G. Prevalence and risk factors for infection with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) in swine herds in Illinois (USA). Vet. Res. 31:87-88. 2000.
- [17] WILLS, R.W.; ZIMMERMAN, J.J.; YOON, K.J.; SWENSON, S.L.; HOFFMAN, L.J.; MCGINLEY, M.J. Porcine

- reproductive and respiratory syndrome virus: routes of excretion. **Vet. Microbiol**. 57:69-81. 1997.
- [18] YAEGER, M.J.; PRIEVE, T.; COLLINS, J.; CHRISTOPHER-HENNING, J.; NELSON, M.S.; BEN-FIELD, M. Evidence for the transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in boar semen. Swine HIth. Prod. 5:7-9. 1993.
- [19] YOON, K.J.; JOO, H.S.; CHRISTIANSON, W.T.; MOR-RISON, R.B.; DIAL, G.D. Persistent and contact infection in nursery pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. Swine HIth. Prod. 1:5-8. 1993.
- [20] ZIMMERMAN,J; An update on PRRS prevention, control, and diagnosis. Proceedings of the 19th International Pig Veterinary Society Congress, International Pig Veterinary Society. Copengahen, Denmark july 16-19 DK 18-25 pp. 2006.