

ESTUDIO DE LA RESPUESTA SEROLÓGICA CONTRA EL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO (PRRS) EN CERDOS BAJO CONDICIONES TROPICALES

Serologic Response Study against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRSV) in pigs under tropical environment

Eduardo José Kwiecien^{1*}, Willian Mejía-Silva², Denice Zapata², Armando Quintero-Moreno² y Carolina Gutiérrez³

¹Doctorado en Ciencias Veterinarias, ²Cátedra Sistema de Producción y Patología Porcina, Facultad de Ciencias Veterinarias, La Universidad del Zulia, ³Gerencia Profil Guatemala, Ciudad de Guatemala, Guatemala. *Email: ekwiecie@hotmail.com, Móvil: +502--55347052.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad estudiar la respuesta serológica contra el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS) en cerdos de granjas comerciales, mediante el uso de la prueba de ELISA. Se realizó un estudio serológico de cerdas en función de su número de parto, además de monitorear grupos de cerdos (3 a 21 semanas) en sus diferentes etapas de desarrollo (Inicio, Desarrollo y Finalización). La población muestral correspondió 1.287 muestras sanguíneas que fueron analizadas (430 cerdas y 857 lechones) procedentes de siete diferentes Estados del país. En el rebaño reproductor, la mayor positividad correspondió al grupo de paridad P0, con diferencia estadística respecto a las de paridad P5 y P6 ($P = 0,034$ y $P = 0,047$, respectivamente). En el grupo de lechones, la mayor positividad y mayores valores $S/P \geq 1,0$ se concentró en los lechones de las fases de desarrollo y finalización, con diferencias estadísticas con respecto a la fase de Inicio. Los resultados de Correlación y Regresión efectuados, tanto en el grupo de cerdas como en el de los lechones mostraron una relación y asociación muy débil entre los valores de S/P y la paridad ($r = -0,1629$, $R^2 = 0,0265$) o la edad ($r = 0,1655$, $R^2 = 0,02726$). Los resultados muestran una respuesta inmunitaria contundente al final del período de engorde, por lo que se presume un estado de reinfección o recirculación del virus de PRRS a esas edades. Se encontraron diferencias significativas entre los S/P de la región central y occidental, principalmente entre P4 y P6, y entre la etapa de desarrollo y finalización. Estas diferencias entre las dos regiones, probablemente hayan estado influenciadas por factores no revisados en este estudio, como serían las condiciones climáticas de temperatura, humedad relativa, época del año, densidad poblacional en la región y tamaño del rebaño, entre otros, y que ameritan una indagación adicional.

Palabras clave: PRRS; PRRSV; Elisa; respuesta inmunitaria; serología.

ABSTRACT

The aim of this trial was to study the serologic response against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) virus by using the Elisa test. Serologic samples were taken from sows in every parity and from 3-21 weeks old piglets belonging to 31 pig farms located in seven different States of the Country. For analysis of the results, the data obtained from the pigs were grouped according to the production stage (Nursing, Growing and Finishing). A total of 1,287 serum samples were studied, 430 corresponding to sows group and 857 belonged to pig groups. The sows herd got the greatest S/P values and positivity in females from parity P0 with statistical differences between the parity P5 and P6 ($P = 0.034$ and $P = 0.047$, respectively). In the group of pigs, most positive values and higher percentage of $S/P \geq 1.0$ were obtained from growing and finishing stages, with statistical differences regarding nursing phase. In relation to the correlation and regression results in sow and pigs, although with statistic significances, they showed a very weak relationship and association between S/P values and parity ($r = -0.1629$, $R^2 = 0.0265$) or age ($r = 0.1655$, $R^2 = 0.02726$). Even though viral presence was not study in this work, however, the results showed a raising in immune response at the end of the fattening period, so some kind of PRRS virus reinfection or recirculation state at this age is presumed. Significant differences were found between the S/P values of the central and western region, mainly between P4 and P6, and between Grower and Finishing stages. These differences between the two regions, likely had been influenced by factors not reviewed in this study like the climatic conditions of temperature, relative humidity, season, population density in the region and herd size, etc., warranting additional studies in this field.

Key words: PRRS; PRRSV; Elisa; Immune response; serology.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) es una enfermedad ocasionada por un virus ARN del género *Arterivirus*, que ha producido efectos devastadores en la industria porcina en las últimas tres décadas, provocando grandes pérdidas, y que solo en Estados Unidos abarcan entre 500 y 600 millones de dólares anualmente [16, 29, 46]. Por esto, no es sorprendente que esta enfermedad haya sido considerada como uno de los mayores problemas que enfrenta la producción porcina a nivel mundial.

En infecciones experimentales, la respuesta humoral específica aparece alrededor de los 7 a 10 días (d) post infección (PI), y ésta puede ser detectada mediante el uso de pruebas de Elisa convencionales disponibles en el mercado [1]. Ya para el d 14 PI se espera que la mayoría de los animales sean seropositivos a la infección [18, 22, 43].

Las pruebas serológicas para determinar el estatus de PRRS en rebaños o a nivel individual, son una herramienta costo-efectiva como estrategia para el monitoreo y control de esta enfermedad [4, 37], determinando el estatus sanitario dentro de las granjas, manejando las estrategias de introducción de animales de reemplazo y propiciando el diseño y evaluación de los planes de vacunación [23]. En particular, las pruebas serológicas se han incluido en las estrategias de manejo para determinar el estatus individual y del rebaño, y para el monitoreo y control de la infección por el virus de PRRS [13, 14].

En un estudio sobre seroperfiles realizado en Brasil, Silva y col. [38] obtuvieron una proporción de seropositividad de 75,0; 33,3 y 95,8% en lechones lactantes (0 – 3 sem), de inicio (6–12 sem) y de la fase desarrollo/engorde (15-24 sem), respectivamente.

En Venezuela, los estudios serológicos realizados hasta la fecha dan cuenta de la amplia distribución de la enfermedad mostrando una positividad de rebaños de entre 42 a 90% [2, 3, 10, 20, 21, 35, 41, 42] y una proporción de animales positivos de entre 30 a 82% en granjas con infección activa, y de 8 a 22% en granjas con infección no activa [5, 41], con variaciones en la positividad de acuerdo al tipo de granja, y una disminución de la seroprevalencia en los meses correspondientes a la época de sequía o verano [3]. Asimismo, Mejía y col. [23] encontraron una menor prevalencia, del 34%, en granjas porcinas del estado Zulia, argumentando esta baja prevalencia a los factores climáticos de la zona.

Aun cuando se han realizado investigaciones de carácter epidemiológico sobre PRRS en el país, no se disponen de datos recientes que provean información más actualizada sobre el comportamiento inmunitario de los cerdos ante una infección por PRRS en el rebaño reproductivo y/o a lo largo de la línea de producción de lechones. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue el de investigar el comportamiento de la respuesta inmunitaria contra el virus de PRRS, mediante el uso de la prueba de Elisa convencional, en granjas porcinas ubicadas en zonas bajo condiciones de ambiente tropical.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización geográfica del estudio

El estudio fue conducido en forma retrospectiva, utilizando los resultados de las pruebas serológicas para la detección de anticuerpos contra el virus de PRRS llevados a cabo en 21 granjas en el laboratorio de Patología Porcina de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia (FCV-LUZ), así como las muestras de otras 10 granjas, archivadas en tres laboratorios privados de diagnóstico veterinario de la región central de Venezuela (Ladivet, C.A., SerLab C.A. y Laboratorio de Diagnóstico Depal, C.A.). Las granjas de las cuales se obtuvieron los sueros sanguíneos se localizaban en los estados Aragua, Carabobo, Cojedes, Guárico, Mérida, Falcón y Zulia. Todas las muestras de sueros fueron recolectadas en el período comprendido entre el año 2013 al 2015, época que abarcó este estudio. Todas las granjas tenían historial previo de infección por el virus de PRRS, y las muestras recolectadas correspondían a un estudio serológico transversal en la que las muestras se obtenían de cada paridad y edad en un solo momento durante su recolección.

Las granjas de los estados Aragua, Carabobo y Guárico se ubican en la Zona Climática 2 de la Región Central de país, mientras que Cojedes, aunque corresponde a la Región Central, se encuentra ubicada en la Zona Climática 1 junto con el estado Zulia y Falcón. El estado Mérida se ubica en la Zona Climática 4, esto de acuerdo a lo señalado por Rosales [36].

La Zona Climática 1 corresponde a un clima de cálido a caliente húmedo con una temperatura de unos 32° C en promedio, mientras la Zona Climática 2 comprende un clima cálido húmedo, con temperaturas promedio de 27° C. La Zona Climática 4 corresponde a un tipo de clima cálido húmedo a moderado con temperaturas promedio de unos 23° C [36].

Obtención de las muestras sanguíneas

Las muestras de sangre correspondieron a la toma de 4 a 6 mL por animal que, fueron colectadas de la vena cava o vena yugular mediante tubos vacutainer®. El muestro se realizó, tanto en el rebaño de cerdas reproductoras como en la línea de producción de lechones. Para el caso de las cerdas, se consideró un número de cinco muestras por paridad, incluyendo a las primerizas; y para el grupo de lechones se tomaron entre cinco y diez muestras en las edades de 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 15; 17; 18; 19 y 21 semanas. Luego de la extracción sanguínea, los tubos se colocaron sobre una cama de hielo o de "ice-pack" por unos minutos (min) para acelerar la coagulación, después fueron mantenidos en cava refrigerada hasta su arribo al laboratorio. Las muestras colectadas fueron centrifugadas (Gemmy PLC 05, Taiwán) a temperatura ambiente a 300 g, aproximadamente, por 10 min para la separación de la fase sólida del suero. Posteriormente, el suero obtenido de cada muestra fue dividido en alícuotas de 1 a 2 mL en viales Eppendorf® (Eppendorf AG. 22331, Alemania) y estos fueron almacenados entre -14°C y -16°C (Pexys, TRF-25EA, China), para luego efectuar los subsecuentes análisis.

Detección de Ac contra el virus de PRRS

Todas las muestras de suero sanguíneo fueron probadas para la detección de anticuerpos (Ac) contra el PRRS utilizando la prueba de Elisa (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) comercial HerdCheck PRRS X2 Ab y/o HerdCheck PRRS X3 Ab (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, EUA). Para ello, previamente se efectuó una dilución de 1/40 de los sueros en solución tampón en un volumen de 100 μ L, para luego efectuar el procedimiento de la prueba, de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

La prueba de ELISA se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante, y cuyo procedimiento fue el siguiente: se añadió 100 μ L de cada suero diluido en los posillos y se incubaron por 30 min a temperatura ambiente. Luego las placas fueron lavadas tres veces con 300 μ L de solución tampón de lavado 1X. Después del lavado, 100 μ L del conjugado peroxidasa-anticuerpos anti IgG: HRPO de cerdo, se añadió a cada posillo y se incubó por 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente las placas fueron lavadas con la solución buffer y luego se añadió el sustrato e incubado por 15 min a temperatura ambiente, luego del cual se adicionó 100 μ L de solución frenado. Los resultados fueron leídos en un lector de ELISA (ELx808 Absorbance Microplate Reader. BioTek Instruments, Winooski, VT, EUA) a una longitud de onda de 650 nm y se utilizó el valor del coeficiente muestra sobre positivo (S/P) con un punto de corte de 0,4, siguiendo las recomendaciones del fabricante. Todas las muestras con valores iguales o mayores a 0,4 fueron consideradas como positivas. Por el contrario, todas aquellas muestras con valores por debajo de 0,4 fueron consideradas como negativas.

Análisis estadístico

Los resultados de los valores de muestra sobre positivo (S/P) obtenidos en la prueba de ELISA fueron transferidos a una hoja de cálculo (Microsoft Excel, MSO 2016, Microsoft Corporation, EUA) y agrupados según paridad y edad. Se calculó el porcentaje de positividad para cada grupo, así como los valores promedios, desviación standard, rangos y coeficiente de variación para cada uno de los grupos y edades.

Inicialmente, se efectuaron análisis descriptivos y comparativos para describir el comportamiento serológico de los Ac de acuerdo a las diferentes paridades y edades. Después, los datos de los valores de S/P (Sample/Positive) fueron normalizados mediante una transformación a valores logarítmicos con el objeto de proceder a los respectivos análisis estadísticos [15, 26, 27]. A objeto de suprimir cualquier error durante la transformación logarítmica en aquellos valores de S/P iguales a cero, se utilizó el procedimiento de ajuste previamente descrito por Kuehl [19] con la adición de una constante utilizando la siguiente fórmula:

$$S/P \text{ Ajustado} = SP + Co.$$

El valor SP es el valor absoluto correspondiente a cada resultado de S/P obtenido mediante la prueba de ELISA, y Co es la constante igual a 0,001.

Una comparación estadística entre los valores de S/P en los grupos de edades fue realizada mediante la prueba de ANOVA (One Way Test). Igualmente, el mismo procedimiento fue utilizado para detectar diferencias entre el grupo de cerdas de acuerdo al número de parto. Posteriormente, se efectuó una Prueba F para comparación de varianza de dos muestras a objeto de detectar las posibles diferencias entre los grupos de edades evaluadas. Para ello, se agruparon las diversas edades de acuerdo a las fases de producción que habitualmente se maneja en los sistemas productivos porcinos, de la siguiente manera:

Grupo Lactancia, semana (sem) 3 y 4 de edad.

Grupo Inicio, sem 5; 6; 7; 8; 9 y 10 de edad.

Grupo Desarrollo, sem 11; 12; 13; 15 y 17 de edad.

Grupo Finalización, sem 18; 19 y 21 de edad.

Del mismo modo, la Prueba F se utilizó para la comparación de las varianzas entre las diferentes paridades. Igualmente, se realizó una prueba de Anova para la comparación de los valores S/P, obtenidos en cada paridad y fase de producción, entre las granjas de la Región Central y Occidental (Zulia y Falcón).

Un análisis de Correlación R de Pearson fue realizado entre la edad o paridad y los valores de S/P como variable dependiente, asumiendo que estos últimos siguen una distribución Gaussiana. Adicionalmente, se efectuó una prueba de Regresión (R^2) a objeto de evaluar el grado de asociación o independencia de los valores S/P con respecto a la paridad o edad.

Todas las evaluaciones estadísticas fueron efectuadas mediante el uso del software estadístico MedCalc Statistical Software®, versión 14.8.1, 2014 (MedCalc Software bvba, Ostend, Bélgica).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 1.287 sueros sanguíneos fueron analizados. De éstos, 430 correspondieron al grupo de cerdas reproductoras, y los restantes 857 pertenecían al grupo de lechones de 3 a 21 sem de edad. De estas muestras se obtuvo una positividad del 36,05% en la totalidad de los sueros evaluados (TABLA I). En estudios anteriores realizados en Venezuela se han registrado seropositividades en sistema de flujo continuo (Farrowing-Finishing) con rangos entre 42 a 90% [5, 41]. Estas diferencias de positividad con respecto a las encontradas en el presente estudio pudieran deberse a factores que tienen que ver con las estrategias de control y de manejo de esta enfermedad que se han implementado a lo largo de la última década y que ha provocado una reducción en la infección o transmisión del virus en los rebaños. En otras latitudes, la positividad de rebaño ha sido de 31,4% [25], 30,90% [15] y 42,1% [32], valores que se aproximan a los obtenidos en este estudio, sin embargo, se han reportado tasas medias de positividad de hasta 79,3% [40].

TABLA I
RESULTADOS DE POSITIVIDAD AL VIRUS DE PRRS DE ACUERDO A LOS GRUPOS DE EDADES Y PARIDADES

Etapa	N	Positivos	Negativos	% Positivos
LACTANCIA	137	54	83	39,41
INICIO	407	178	229	43,73
DESARROLLO	212	87	125	41,03
FINALIZACIÓN	101	56	45	55,44
<i>Sub-Total</i>	857	375	482	43,75
P0	74	24	50	32,43
P1	65	13	52	20,00
P2	65	15	50	23,07
P3	69	12	57	17,39
P4	53	13	40	24,52
P5	58	8	50	13,79
P6	46	4	42	8,90
<i>Sub-Total</i>	430	89	341	20,69
<i>Totales</i>	1287	464	823	36,05

En cuanto a lo observado en el rebaño de cerdas, la positividad fue del 20,69% (89/430), mientras que, en el grupo de lechones, la positividad ascendió al 43,75% (375/857). Los valores de positividad en las cerdas fueron muy similares a los reportados previamente por Pommier y col. [34] y Yeager y col. [45]. Entre las paridades, la positividad mayor fue para el grupo de P0 (Primerizas), seguida de la paridad 4 (P4) y 2 (P2), con 24,52 y 23,07%, respectivamente. Los resultados obtenidos coinciden con los descritos por Pommier y col. [34] y Padrino [33] quienes encontraron una positividad mayor en cerdas de paridad P0 y P1. En el caso de las cerdas P0, es normal conseguir una alta positividad y títulos altos ya que estas hembras ingresan al rebaño y conforman el grupo de individuos susceptibles que van a reaccionar en forma aguda, y de allí que se tenga mayor probabilidad de conseguir una proporción mayor de positividad en este grupo de hembras.

La positividad en los lechones fue de 39,41; 43,73; 41,03 y 55,44% para los grupos de Lactancia, Inicio, Desarrollo y Finalización, respectivamente. Cabe destacar la alta positividad en el grupo de lechones de finalización en comparación con las otras dos fases de producción, principalmente con la etapa de Inicio. No solamente el grupo de lechones de Finalización mostró la mayor positividad a la infección del virus de PRRS, sino que, adicionalmente, fue el grupo que concentró la mayor proporción de individuos con valores de S/P superiores a 1.000, registrando una proporción de 42,57% (FIG. 1). La alta positividad en la fase de Finalización está acorde a lo reportado por otros investigadores quienes obtuvieron tasas de 56% [25] a 84,1% [31], sin embargo, Yeager y col. [45] reportaron valores menores de 33% en lechones de esas edades.

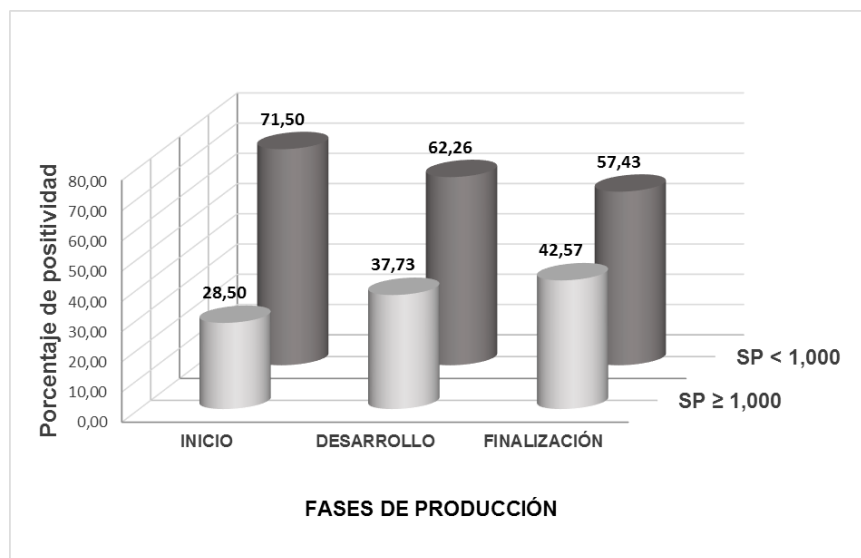


FIGURA 1. DISTRIBUCIÓN DE VALORES S/P EN LAS DIFERENTES FASE DE PRODUCCIÓN. LOS VALORES DE S/P SE AGRUPARON EN VALORES MAYORES O IGUALES A 1,000 Y MENORES A 1,000. SE OBSERVA UNA DISTRIBUCIÓN ASCENDENTE A MEDIDA QUE SE AVANZA EN LAS DISTINTAS FASES. LA MAYOR CONCENTRACIÓN DE VALORES S/P ≥ 1,000 SE DETECTÓ EN LA FASE DE FINALIZACIÓN.

Se presume que la fase de Inicio es el período donde los animales son más susceptibles y se inicia la respuesta humoral aguda al virus de PRRS a consecuencia de la pérdida de anticuerpos calostrales. Esta respuesta tiende a producirse entre los 7 a 10 d post infección (PI), alcanzando un pico entre 2 a 4 sem PI [28], de allí que se espera que exista mayor número de individuos positivos y con altos títulos de anticuerpos en las siguientes semanas post-destete.

Los Ac contra el virus de PRRS detectados por Elisa, están presentes en un alto porcentaje, tanto en lechones de engorde como en cerdas pertenecientes a granjas positivas a esta enfermedad [13, 30], y de acuerdo a lo señalado por Dee y Joo [7], los rebaños activamente infectados por el virus de PRRS tienden a tener una alta proporción de animales seropositivos uniformemente distribuidos en la población de lechones a lo largo del período post-destete. Por otra parte, las granjas positivas, pero con la infección no activa, la mayoría de los lechones seropositivos se detectan en las primeras dos semanas pos-destete (Sem 3 a 5 de edad). Ya que en este trabajo se observaron altas tasa de positividad desde la fase de Inicio hasta la fase Finalización, se puede asumir que, las granjas de donde se recolectaron las muestras de suero sanguíneo, muy probablemente se encontraban en la fase activa de la infección,

al menos en la mayoría de ellas, y que posiblemente hubo una especie de recirculación o reinfección en la fase de finalización por la alta positividad observada en esta etapa de crecimiento. Otro factor posiblemente involucrado en el alto porcentaje de animales infectados durante el engorde puede ser debido al tipo de instalaciones que alberga los animales (piso corrido, charcas, mayor humedad) el cual favorece un mayor contacto de los animales con las secreciones y heces, permitiéndole un mayor tiempo de viabilidad al virus fuera del hospedador.

En la TABLA II se encuentran los resultados de estadística descriptiva obtenidos de los valores de S/P agrupados según paridad y edad. La fase de Finalización mostró una frecuencia alta de valores de S/P mayores a 1,0 con respecto al resto de las fases de producción (42,57 versus 28,50 y 37,73% en las fases de Inicio y Desarrollo). Al revisar los promedios de valores máximos de S/P por fase de producción (TABLA II), se obtuvo un valor de 4,395 para los lechones en Finalización, en comparación a los obtenidos en la fase de Inicio y Desarrollo cuyos valores promedios máximos fueron de 3,140 y 3,892, respectivamente. Estos últimos resultados soportan la hipótesis del estado de recirculación o reinfección en la fase de Finalización que se señaló anteriormente.

TABLA II
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA PARA LOS VALORES DE S/P POR PARIDAD Y EDAD.

	Paridad							Edad (Sem)															
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6*	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	15	17	18	19	21
Media	0,525	0,266	0,285	0,270	0,283	0,188	0,142	0,549	0,801	0,506	0,574	0,551	1,179	0,568	1,117	0,738	1,202	0,566	1,319	0,545	1,324	0,764	1,31
Des.Std.	0,800	0,559	0,528	1,592	0,534	0,384	0,369	0,872	1,012	0,671	0,886	0,668	1,132	0,943	0,172	0,904	1,383	1,072	1,487	1,186	1,434	0,177	1,21
Mediana	0,090	0,054	0,050	0,036	0,063	0,052	0,000	0,136	0,429	0,189	0,106	0,213	0,831	0,045	0,641	0,238	0,146	0,031	0,240	0,000	0,540	0,090	0,88
E.Est.	0,093	0,069	0,065	0,077	0,064	0,050	0,054	0,110	0,116	0,082	0,088	0,095	0,137	0,125	0,148	0,233	0,159	0,214	0,175	0,235	0,221	0,343	0,18
C V %	67,48	87,23	85,17	115,96	45,85	144,53	25,71	14,54	49,52	41,76	50,75	31,34	48,63	53,15	30,95	116,97	79,19	281,25	25,90	1,95	1,05	23,18	63,2
IC 95%	0,339 0,710	0,139 0,417	0,155 0,417	0,116 0,424	0,153 0,410	0,086 0,289	0,032 0,251	0,328 0,771	0,568 1,034	0,342 0,670	0,399 0,749	0,359 0,743	0,330 1,612	0,318 0,819	0,821 1,413	0,238 1,239	0,884 1,520	0,123 1,008	0,969 1,668	0,055 1,035	0,877 1,770	0,026 1,500	0,94 1,68
Min.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,105	0,000	0,11
Max.	3,022	2,668	2,562	3,747	1,770	2,094	2,012	4,356	4,472	2,698	3,057	2,735	3,181	3,072	4,062	2,710	4,486	3,396	4,371	4,495	4,543	4,898	3,74
	Fase de Producción							INICIO							DESARROLLO					FINALIZACIÓN			
	Promedio Valores Máximos							3,140							3,892					4,395			

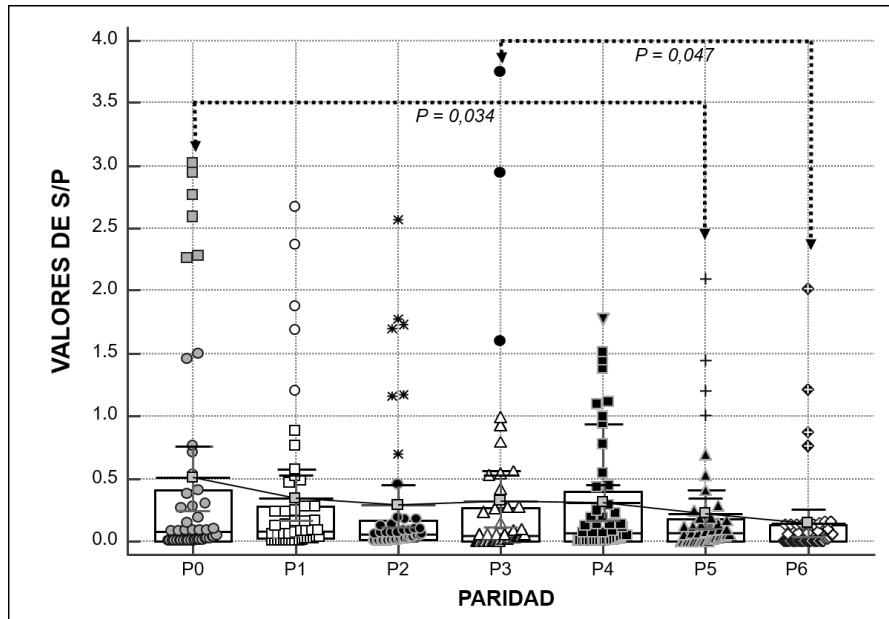
*6 o más partos.

Des.Std. = Desviación Estándar; E.Est.= Error Estándar de la Media; CV= Coeficiente de Variación; IC= Intervalos de Confianza al 95% para la Media

En la FIG. 2 se muestra la cinética de los valores S/P a lo largo de las diferentes paridades y edades. La prueba de Anova verificó las diferencias altamente significativas entre las diversas paridades ($P= 0,0085$). El valor promedio de S/P más alto se obtuvo en el grupo de cerdas P0 ($0,525 \pm 0,800$) con rangos de 0,000 a 3,022, mientras que los valores más bajos fueron para P6. Se detectaron diferencias entre esta paridad P0 y la paridad

P5 y entre P3 y P5 (FIG. 2a). Los rangos de S/P en el grupo P0 o de cerdas primerizas fue algo diferente a los reportado por Tummaruk and Tantilertcharoen [39] quienes obtuvieron rangos de entre 0,428 a 3,673. Dewey y Rajic [9], reportaron los valores más altos de S/P en cerdas de primer parto, y los títulos más bajos en la paridad dos, aunque no encontraron diferencias significativas como las reportadas en el presente trabajo.

a) Cerdas



b) Lechones

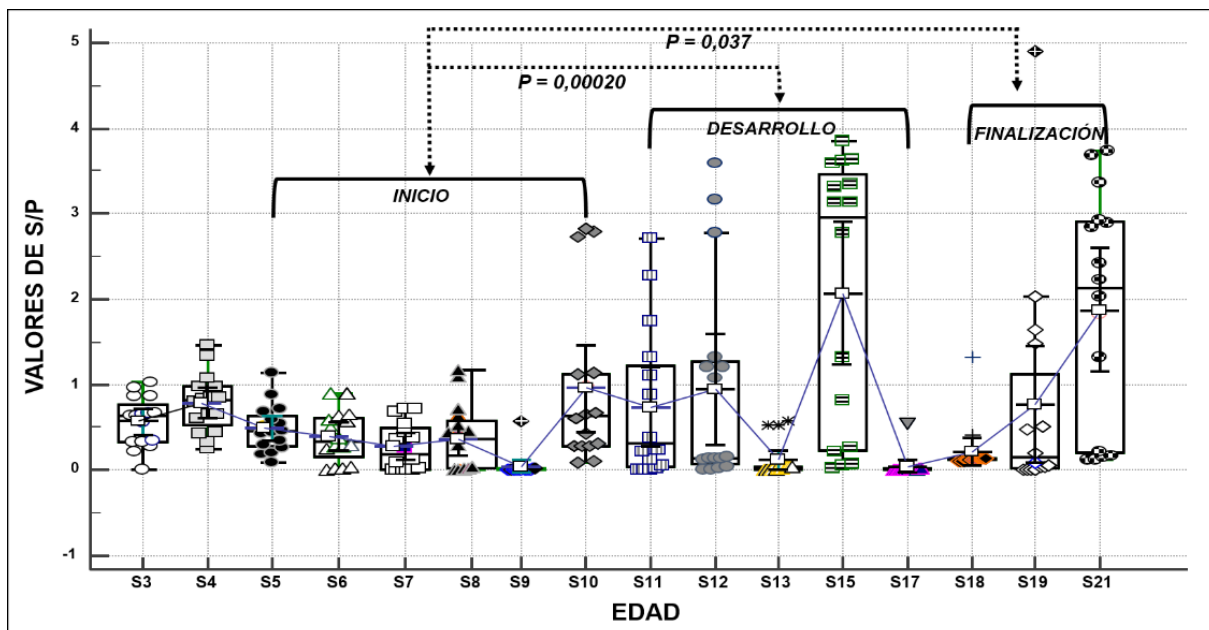
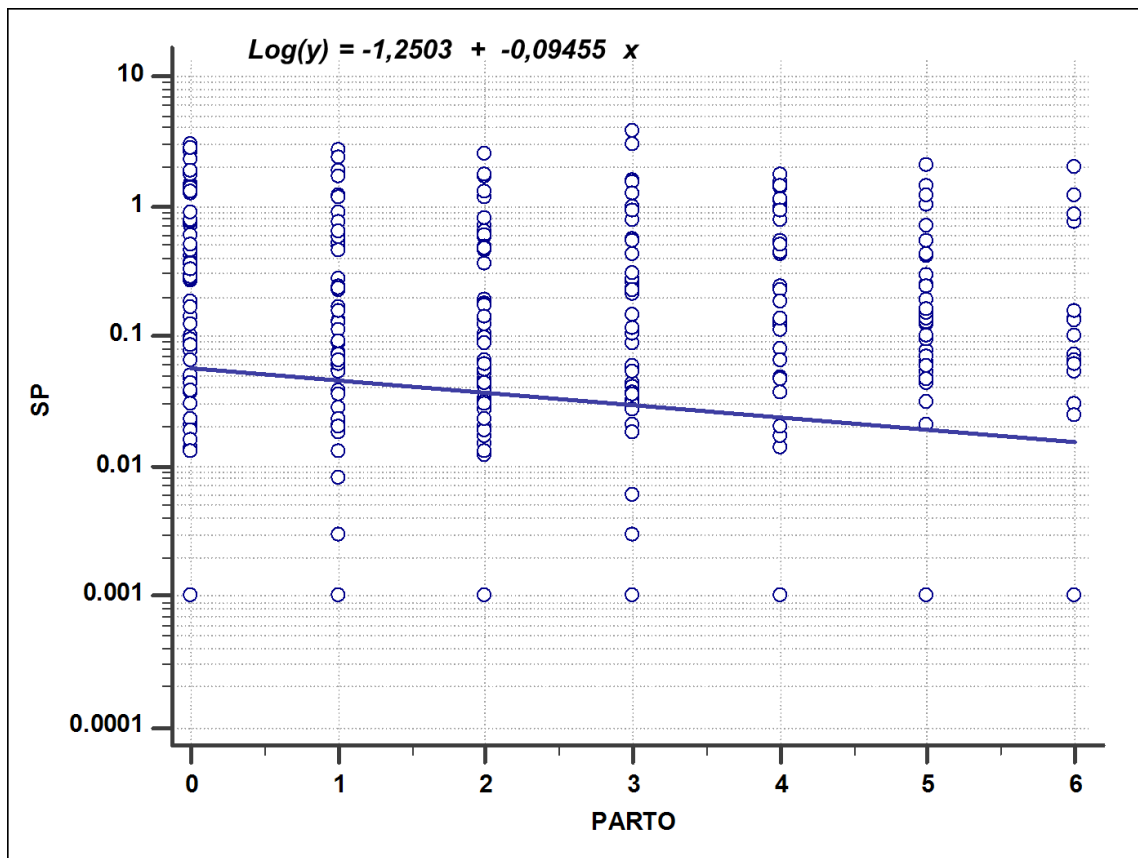


FIGURA 2. COMPORTAMIENTO DE LOS VALORES S/P CONTRA EL VIRUS DE PRRS POR PARIDAD Y EDAD.

Box and Whisker Plot. El cuadro interno representa los percentiles 25 a 75. La línea central representa la Mediana. Las líneas verticales con barras se extienden desde los valores mínimos a máximos, excluyendo los valores extremos o alejados los cuales se representan como puntos separados. Una línea continua intercepta la mediana en cada grupo. La flechas respunteadas señalan las diferencias estadísticas (F Test) de las varianzas entre las paridades y/o grupos de edades (FIGS. 2a y 2b). Los corchetes horizontales indican las fases de producción analizadas (FIG. 2b).

La prueba de Correlación resultó en una relación baja y negativa ($r = -0,1629$) entre los valores S/P y la paridad, pero altamente significativa estadísticamente ($P = 0,00069$). De igual manera, los resultados del estudio de Regresión mostraron una

pendiente negativa con un R^2 de solo 2,65% (FIG. 3), lo que indica que hay una relación muy baja entre los S/P y las paridades aun cuando el análisis de varianza resultó en un nivel de significancia estadística alto ($P = 0,00069$). Estos resultados estadísticos indican que no se obtuvo una relación o asociación adecuada que pudiera afirmar que la respuesta inmunitaria en el rebaño de cerdas tiende a reducirse a medida que aumenta la paridad, si no que la tendencia observada es solo fortuita y no como resultado de un evento normal y natural. No obstante, se sabe que la susceptibilidad a la infección por el virus de PRRS se reduce con la edad, y para el caso de las cerdas, éstas son sustancialmente más resistentes que los lechones destetados [19], por lo que se esperaría tanto, una disminución de positividad y de valores S/P en las cerdas a medida que transcurren sus paridades.

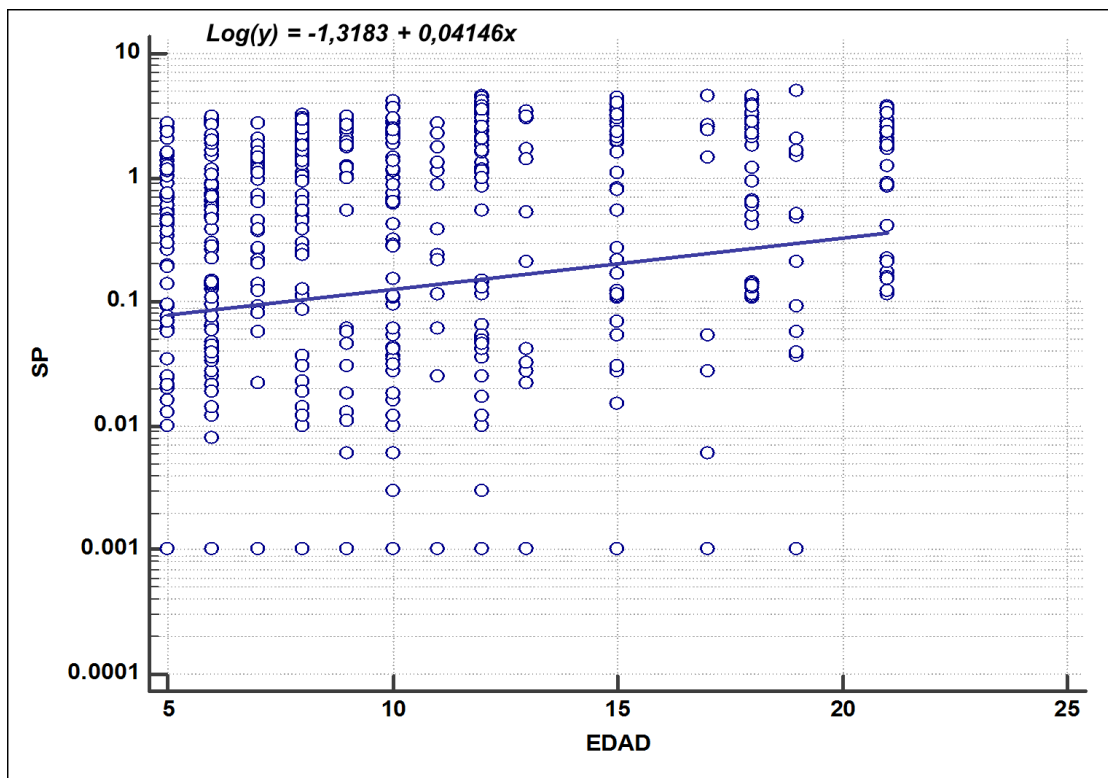


$r = -0,1629$; $R^2 = 0,02654$; $RSD = 1,1285$; $P = 0,000697$; $N = 430$.

FIGURA 3. PREDICCIÓN DE LOS VALORES S/P DE ACUERDO A LA PARIDAD, CONSIDERANDO TODOS LOS ANIMALES POSITIVOS Y NEGATIVOS.

En cuanto a la cinética de la respuesta inmunitaria en el grupo de lechones (FIG. 2b), se puede observar el comportamiento de los valores S/P, en los que se pudo obtener diferencias altamente significativas entre las diversas edades estudiadas ($P = 0,11E-007$). Cuando se analizaron los valores S/P entre las distintas fases de producción, el análisis estadístico mostró diferencias estadísticas entre la Fase de Inicio versus Desarrollo

y Finalización ($P = 0,00020$ y $P = 0,037$, respectivamente), no así entre la fase de Desarrollo y la de Finalización ($P = 0,495$). Como en el caso del grupo de cerdas, el valor de Correlación fue también bajo ($r = 0,1651$, $P = 0,0000084$) aunque con alta significancia. Igualmente, el resultado de la prueba de regresión mostró un valor de R^2 bajo ($0,02726$) pero a un nivel altamente significativo ($P = 0,0000084$) y con pendiente positiva (FIG. 4).



$r = 0,1651$; $R^2 = 0,02726$; $RSD = 1,1793$; $P = 0,0000084$; $N = 720$

FIGURA 4. PREDICCIÓN DE LOS VALORES S/P DE ACUERDO A LA EDAD CONSIDERANDO TODOS LOS ANIMALES POSITIVOS Y NEGATIVOS.

Los resultados de las Correlaciones y Regresiones efectuadas en el grupo de cerdas y lechones no fueron los esperados, por la debilidad de los valores de r y R^2 obtenidos. Las posibles explicaciones al comportamiento de los resultados tienen que ver con la existencia de valores extremos que fueron observados en ambos grupos (FIGS. 2a y 2b), y que de alguna manera provocaron cierta distorsión en los resultados, y por otro lado, a las diferencias en las respuestas serológicas individuales, de tanto lechones como de cerdas, que conformaron subgrupos dentro de cada uno de los grupos de paridades y edades estudiadas y que afectaron los resultados finales.

Al analizar en su totalidad los resultados serológicos en el grupo de lechones, se observa una ligera tendencia de tener valores altos hacia el final del período de engorde (Desarrollo y Engorde), Esta tendencia fue constatada cuando se separaron los valores S/P en menores y mayores a 1,0 (FIG. 1). Esta tendencia se acentuó cuando se obtuvo los más altos valores de S/P en el grupo de lechones de la fase de Finalización. Este comportamiento induce a pensar que probablemente haya habido un estado de reinfección o recirculación viral en ese período.

Se ha descrito que la magnitud de la respuesta humoral contra el virus de PRRS está relacionada al nivel de replicación viral durante la fase aguda de la infección [15, 17]. Tomando en consideración esta afirmación, en el presente estudio se pudo

observar altos valores de S/P al final de período de engorde (Finalización), y que probablemente esta respuesta inmunológica haya tenido su explicación por una alta tasa de replicación viral a esas edades. Se sabe que la recirculación del virus de PRRS en una granja puede llegar a ser indefinida por efecto del flujo de animales susceptibles y la presencia de animales infectados durante un largo período de tiempo [6, 31].

En el presente estudio, no se obtuvo evidencia de esta recirculación por las limitaciones intrínsecas relacionado con la prueba de ELISA, ya que la detección de anticuerpos por este medio no provee información sobre la real circulación del virus [11], y porque no fue planteado inicialmente en este estudio el indagar sobre la presencia viral, lo que requeriría de otras pruebas adicionales.

Al analizar el comportamiento de los valores S/P de acuerdo a la región, se obtuvieron diferencias estadísticas entre las paridades P4 y P6 del grupo de cerdas (TABLA III), mientras que esas diferencias fueron altamente significativas en los cerdos de la fase de Desarrollo y Finalización entre ambas regiones. Tummaruk y col. [40] pudieron detectar diferencias en la prevalencia de PRRS en diversas regiones de Tailandia, concluyendo que la localización influyó en la prevalencia de las regiones estudiadas.

TABLA III
RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE LOS VALORES S/P POR PARIDAD Y FASE DE PRODUCCIÓN ENTRE LA REGIÓN CENTRAL Y LA REGIÓN OCCIDENTAL

PARTO/ETAPA	REGION CENTRAL	REGIÓN OCCIDENTAL	Valor de P
	<i>Promedio ± D. Std.</i>		
P0	0,6477 ± 0,9424	0,4237 ± 0,5698	P = 0,827
P1	0,9424 ± 0,9631	0,1373 ± 0,2748	P = 0,089
P2	0,3745 ± 0,5248	0,1948 ± 0,3384	P = 0,519
P3	0,2942 ± 0,3777	0,1823 ± 0,3907	P = 0,940
P4	0,3084 ± 0,2935	0,2209 ± 0,3632	P = 0,0001*
P5	0,1270 ± 0,6025	0,1685 ± 0,3097	P = 0,811
P6†	0,2798 ± 0,1286	0,1488 ± 0,2526	P = 0,012*
INICIO	0,3970 ± 0,7227	0,07259 ± 0,2105	P = 0,204
DESARROLLO	0,9049 ± 1,0420	0,07470 ± 0,03763	P = 0,00012*
FINALIZACIÓN	1,3975 ± 1,1110	0,1664 ± 0,08959	P = 0,16E-009*

*diferencia estadística

† 6 o más partos

Se ha documentado que las condiciones climáticas específicas son de importancia para la sobrevivencia de microorganismos en bioaerosoles y para su viabilidad en grandes distancias [6], y además la presencia de virus en las partículas aerógenas está asociada a las condiciones de baja temperatura, humedad relativa, velocidad del viento y presión atmosférica, y una alta radiación solar [8]. De acuerdo a lo señalado por Padrino [33], existen condiciones ambientales muy comunes en los diferentes Municipios que conforman el estado Zulia, por lo cual esto limitaría la viabilidad del virus de PRRS fuera del hospedador, y reduciría su transmisión en largas distancias. Esta característica que se presenta, tanto en el estado Zulia como en el estado Falcón, pudiera de cierto modo ser un reflejo de la menor positividad y de menores valores S/P registrados en las granjas de esa región, y de allí que las diferencias observadas en el análisis estadístico entre la región central y occidental, probablemente pudieran ser inducidas por el efecto de la ubicación geográfica y de otras variables no revisadas en este estudio, como serían, la densidad poblacional de granjas y tamaño del rebaño, el tipo de instalaciones, el manejo, flujo de animales, entre otros [12, 44].

En estos últimos aspectos, una diferencia notable entre la región central y occidental tiene que ver con la densidad de granjas y el tamaño de estas. Se sabe que en la región central existen zonas de alta densidad de granjas, como lo son el Sector Morocopo y Zuata en Aragua, el Sector La Guaricha y la zona de Güigüe en Carabobo, y el Sector Taguanes en Cojedes. Aunado a esto, hay un predominio de granjas con alta población de animales en las granjas ubicadas en la región central, comparado a las de la región occidental. Esta característica de la región central podría estar facilitando la permanencia, transmisión y circulación del virus de PRRS a mayor nivel que en la región occidental, la

cual ha sido señalada como una región con una baja densidad poblacional y un menor número de granjas porcinas [24].

Los resultados obtenidos en este estudio corresponden situaciones y circunstancias de manejo de las granjas que mantenían condiciones ambientales que son propias de un clima tropical. De allí que la extrapolación de estos resultados solo podría ser valedera en condiciones de ambiente similares. Al parecer, éste es el primer trabajo en Venezuela que analiza el comportamiento de la respuesta inmunitaria contra el virus de PRRS a lo largo de la línea de producción y de las diferentes paridades estudiadas en granjas porcinas de dos regiones diferentes, por lo que este estudio es un aporte al entendimiento de la respuesta inmunitaria contra este virus a nivel de campo y muestra ciertas evidencias de la posible influencia de la localización geográfica y las condiciones ambientales sobre esa respuesta. La información obtenida en este estudio pudiera ser útil para establecer estrategias en el manejo de esta enfermedad en los rebaños porcinos del país.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio muestran que existe una amplia distribución de anticuerpos contra el virus de PRRS en el rebaño reproductor, así como en las diversas edades de la línea de producción en las diversas granjas estudiadas. En el rebaño de cerdas, la respuesta inmunitaria obtenida en las cerdas primerizas, demuestran que este grupo continúa siendo el grupo más vulnerable al virus del PRRS por lo que se deben implementar medidas que tienda a revertir esta situación. En cuanto al grupo de lechones, los resultados muestran un alza

en la respuesta inmunitaria al final del período de engorde, por lo que se presume un estado de reinfección o recirculación del virus de PRRS durante el tiempo en que se efectuó este estudio. Adicionalmente, se pudo apreciar diferencias en la respuesta inmunitaria de los animales entre las regiones estudiadas, lo que supondría una posible influencia de la localización geográfica y las condiciones climáticas predominantes en cada región, así como el posible efecto de factores tales como, la densidad poblacional de granjas, tamaño del rebaño, tipo de instalaciones, manejo, flujo de animales, entre otros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BATISTA, L.; DEE, S.A.; ROSSOW, K.D.; POLSON, D.D.; XIAO, Z.; OLIN, M.; MURTAUGH, M.R.; MOLITOR, T.W.; JOO, H.S.; PIJOAN, C. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pigs with low positive or negative ELISA s/p ratios. **Vet. Rec.** 154: 25-26, 2004.
- [2] BOULANGER, A.; MOSCARDI, A. Prevalence and serologic profile of antibodies in PRRSV from several farms in Venezuela. **Proc. 15th IPVS Congress.** Birmingham, 07/5-9. United Kingdom. 312 pp. 1998.
- [3] BOULANGER, A.; ROLO, M.; UTRERA, V.; RAMÍREZ, O.J.; NOGUERA, C. Seroepidemiology of PRRS infection in four pig farms in Venezuela. **Proc. 19th IPVS Congress.** Copenhagen, 07/16-19. Denmark. Vol. 2, 32 pp. 2006.
- [4] BROWN, E.; LAWSON, S.; WELBON, C.; GNANANDARAJAH, J.; LI, J.; MURTAUGH, M.P.; NELSON, E.A.; MOLINA, R.M.; ZIMMERMAN, J.J.; ROWLAND, R.R.R.; FANG, Y. Antibody Response to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) Nonstructural Proteins and Implications for Diagnostic Detection and Differentiation of PRRSV Types I and II. **Clin. Vacc. Immunol.** 15(5):628-635. 2009.
- [5] CANO, J.P.; UTRERA, V.; FUENTES, D.; SOGBE, E.; ZANNIN, L. Some factors associated with the Seroprevalence of PRRS in Venezuela. **Proc. 17th IPVS Congress.** Ames, 06/2-5. Iowa, USA. 241 pp. 2002.
- [6] COX, C.S. Airborne bacteria and viruses. **Sci. Progr.** 73:469-500. 1989.
- [7] DEE, S.A.; JOO, H.S. Strategies to control PRRS: a summary of field and research experiences. **Vet. Microbiol.** 55:347-353. 1997.
- [8] DEE, S.A.; OTAKE, S.; OLIVEIRA, S.; DEEN, J. Evidence of long distance airborne transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and Mycoplasma hyopneumoniae. **Vet. Res.** 40:39. 2009.
- [9] DEWEY, C.; RAJIC, A. Passive immunity due to PRRS in vaccinated and unvaccinated sow herds. **Vet. Res.** 31:44-45. 2000.
- [10] DÍAZ, C.T.; SOGBE, E.; ASCANIO, E.; BOULANGER, A.; RODRÍGUEZ, C. Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino. Detección de Antígeno Tisular. Aspectos Clínicos, anatomopatológicos y serológicos en los Estados Aragua y Carabobo, Venezuela. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** IX (3): 215-222. 1999.
- [11] DUINHOF, T.F.; VAN SCHAİK, G.; VAN ESCH, E.J.; WELLENBERG, G.J. Detection of PRRSV circulation in herds without clinical signs of PRRS: comparison of five age groups to assess the preferred age group and sample size. **Vet. Microbiol.** 150(1-2):180-4. 2011.
- [12] EVANS, C.M.; MEDLEY, G.F.; GREEN L.E. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in GB pig herds: farm characteristics associated with heterogeneity in seroprevalence. **BMC Vet. Res.** 4:48. 2008.
- [13] FERRIN, N.H.; FANG, Y.; JOHNSON, C.R.; MURTAUGH, M.P.; POLSON, D.D.; TORREMORELL, M.; GRAMER, M.L.; NELSON, E.A. Validation of a Blocking Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Antibodies against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. **Clin. Diag. Lab. Immunol.** 11(3):503-514. 2004.
- [14] GREINER, M.; GARDNER L.A. Application of diagnostic tests in veterinary epidemiologic studies. **Prev. Vet. Med.** 45:43-59. 2000.
- [15] HEYDECK, S.M.L.; BRAVO, G.G.H.; BERNABÉ, S.L.; VARGAS, E.S.; TORRES, A.C.; VALDÉS, F. DE LA C. Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSV) en granjas tecnificadas del Estado de Mexico. **Rev. Mex. Cientif. Pec.** 4(4):469-488. 2013.
- [16] HOLTkamp, D.; KLIEBENSTEIN, J.; NEUMANN, D. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on United States pork producers. **J. Swine Health Prod.** 21(2):72-84. 2013.
- [17] JOHNSON, W.; ROOF, M.; VAUGHN, E.; CHRISTOPHER-HENNINGS, J.; JOHNSON, C.R.; MURTAUGH, M.P. Pathogenic and humoral immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) are related to viral load in acute infection. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 102:233-247. 2004.
- [18] KLINGE, K.L.; VAUGHN, E.M.; ROOF, M.B.; BAUTISTA, E.M.; MURTAUGH, M.P. Age-dependent resistance to Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication in swine. **Virology.** 6:177. 2009.
- [19] KUEHL, R.O. Diagnóstico de la concordancia entre los datos y el modelo. In: **Diseño de experimentos. Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación.** 2da. Ed. International Thomson Editores, S.A. de C.V. Mexico. 136 pp. 2001.
- [20] KWIECIEN, E.J.; BARBOSA, D.; GUTIÉRREZ, C.; BERMÚDEZ, V. High Mortality Syndrome (HMS) associated

- with multiple infections in pigs from Venezuela pig farms. **Proc. 20th IPVS Congress**, Durban, 06/22-26. South Africa. P05.003. 360 pp. 2008.
- [21] LABARQUE, G.G.; NAUWYNCK, H.J.; VAN REETH, K.; PENSART M.B. Effect of cellular changes and onset of humoral immunity on the replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the lungs of pigs. **J. Gen. Virol.** 81:1327-1334. 2000.
- [22] LU, C.; LIM, K.I.; HAHN, T.W.; KWON, H.M.; HAN, J.H. Seroprevalence of Elisa antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Korea. **Annals Anim. Resour. Sci.** 10:127-137. 1999.
- [23] MEJÍA, S.W.; CALATAYUD, D.; ZAPATA, D.; QUINTERO, M.A.; TORRES, P.; CHANGO, M. Seroprevalencia de la Enfermedad de Aujeszky y del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) en granjas porcinas del Municipio Mauroa del Estado Falcón. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XX (2):139-144. 2012.
- [24] MEJÍA, S.W.; PADRINO, T.; ZAPATA, D.; ARANGUREN, A.; PORTILLO, G.; QUINTERO, A.; KWIECIEN, E.J.; NEGRETE, J.C. Seroprevalence of PRRS in breeding herds from pig farms of Zulia State. **Proc. 20th IPVS Congress**, Cancun, 6/8-11. Mexico, P100. 96 pp. 2014.
- [25] MELÉNDEZ, J.A.S.; ARIAS, J.L.; ANDRADE, H.F.; RAMÍREZ, R.A.; RAMOS, J.J.Z.; VALDÉS, V.R.; CORREA, J.C.S. Presencia de animales seropositivos al síndrome reproductivo y respiratorio porcino en Nuevo León. **Vet. Méx.** 39(2): 215-221. 2008.
- [26] MOLINA, R.M.; CHA, S.H.; CHITTICK, W.; LAWSON, S.; MURTAUGH, M.P.; NELSON, E.A.; CHRISTOPHER-HENNINGS, J.; YOON, K.J.; EVANS, R.; ROWLAND, R.R.R.; ZIMMERMAN, J.J. Immune response against porcine reproductive and respiratory syndrome virus during acute and chronic infection. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 126:283-292. 2008.
- [27] MONTGOMERY, D.C. Applications of Statistical Process Control and Quality Improvement Tools. In: **Introduction to Statistical Quality Control**. 7th Ed. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 229 pp. 2013.
- [28] MURTAUGH, M.P.; XIAO, Z.; ZUCKERMANN, F. Immunological Responses of Swine to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Infection. **Viral Immunol.** 15(4):533-547. 2002.
- [29] NEUMANN, E.J.; KLIEBENSTEIN, J.B.; JOHNSON, C.D.; MABRY, J.H.; BUSH, E.J.; SEITZINGER, A.H.; GREEN, A.L.; ZIMMERMAN, J.J. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. **J. Ame. Vet. Med. Assoc.** 227(3):385-392. 2005.
- [30] NODELIJK, G.; VAN LEENGOED, L.A.; SCHOEVEERS, E.J.; KROESE, A.H.; DE JONG, M.C.; WESVOORT, G.; VERHEIJDEN, J.H. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Dutch weaning pigs. **Vet. Microbiol.** 56:21-31. 1997.
- [31] NODELIJK, G.; NIELSEN, M.; DE JONG, M.C.; VERHEIJDEN, J.H. A review of porcine reproductive and respiratory syndrome in Dutch breeding herds: population dynamics and clinical relevance. **Pre. Vet. Med.** 60:37-52. 2003.
- [32] O'SULLIVAN, T.R.; FRIENDSHIP, R.M.; PEARL, D.L.; MCEWEN, B.; DEWEY, C.E. Identifying an outbreak of a novel swine disease using test requests for porcine reproductive and respiratory syndrome as a syndromic surveillance tool. **BMC Vet. Res.** 8:192. 2012.
- [33] PADRINO, T.D. Seroprevalencia del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino y la Enfermedad de Aujeszky en granjas porcinas del estado Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. Trabajo de Grado. 74 pp. 2014.
- [34] POMMIER, P.; PAGOT, E.; KEÏTA, A.; AUVIGNE, V.; NELL, T.; RIDREMONT, B. Epidemiological study of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus infection in French farrowing to finishing herds. **Proc. 4th Int. Symp. Emerg. and Re-emerg. Pig Dis.** Roma, 06-07/20-02. Italy 2003.
- [35] ROLO, M.; LÓPEZ, N.; PALENCIA, L.; SIFONTES, S.; MARTÍNEZ, J.; SANDOVAL, A. The Seroprevalence of porcine respiratory and Reproductive syndrome in Venezuela. **Proc. 15th IPVS Congress**. Birmingham, 07/5-9. United Kingdom. 314 pp. 1998.
- [36] ROSALES, L. Zonas climáticas para el diseño de edificaciones y diagramas bioclimáticos para Venezuela. **Rev. Tecnol. Constr.** Vol.23-I: 45-60. 2007.
- [37] SATTLER, T.; WODAK, E.; REVILLA-FERNÁNDEZ, S.; SCHMOLL, F. Comparison of different commercial ELISAs for detection of antibodies against porcine respiratory and reproductive syndrome virus in serum. **BMC Vet. Res.** 10:300. 2014.
- [38] SILVA, J.; ROCHA, D.; CUNHA, I.; RUI SALES, L.; NETO, F.; FONTES, M.C.; SIMÕES, J. Serological profile of offspring on an intensive pig farm affected by porcine reproductive and respiratory syndrome. **AP J. of Reprod.** 1(1):1-5. 2015.
- [39] TUMMARUK, P.; TANTILERTCHAROEN, R. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease, and porcine parvovirus in replacement gilts in Thailand. **Trop. Anim. Health Prod.** 44:983-989. 2012.

- [40] TUMMARUK, P.; SURAPAT, P.; SUTHARAT, S.; SEEMAKRAM, O.; OLANRATMANEE, E.; TANTILERTCHAROEN, R.; THANAWONGNUWECH, R. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection in Thailand during 2005–2010 in relation to clinical problems, pig types, regions, and seasons. **Trop. Anim. Health Prod.** 45:771–779. 2013.
- [41] UTRERA, V.; CANO, J.P.; FUENTES, M.D.; SOGBE, E.; ZANNIN, L. Field study of PRRS virus and other infectious agents in Venezuela. In: **The Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Compendium: A comprehensive reference on PRRS for pork producers, veterinary practitioners, and researchers**. Zimmerman, J.J.; Yoon, K.-J. (Eds). 2nd Ed. National Pork Board, Des Moines Iowa. Pp 285-287 2003.
- [42] UTRERA, V.; DEL CASTILLO, S. Situación actual del Síndrome Respiratorio y Reproductivo del Cerdo (PRRS) en Venezuela. **1er Seminario sobre PRRS**. Maracay, 11/16, Venezuela. 5 pp. 2006.
- [43] VAN DER LINDEN, I.F.; VOERMANS, J.J.; VAN DER LINDEBRIL, E.M.; BIANCHI, A.T.; STEVERINK, P.J. Virological kinetics and immunological responses to a porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of pigs at different ages. **Vaccine**. 21:1952-1957. 2003.
- [44] VELASOVA, M.; ALARCON, P.; WILLIAMSON, S.; WIELAND, B. Risk factors for porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection and resulting challenges for effective disease surveillance. **BBC Vet. Med.** 8:184. 2012.
- [45] YAEGER, M.J.; KARRIKER, L.A.; LAYMAN, L.; HALBUR, P.G.; HUBER, G.H.; VAN HULZEN, K. S. Survey of disease pressures in twenty-six niche herds in the midwestern United States. **J. Swine Health Prod.** 17(5):256-263. 2009.
- [46] ZIMMERMAN, J.J.; BENFIELD, D.A.; DEE, S.A.; MURTAUGH, M.P.; STADEJEK, T.; STEVENSON, G.W.; TORREMORELL, M. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). In: **Diseases of Swine**. Zimmerman, J.J.; Karriker, L.A.; Ramirez, A.; Schwart, K.J. and Stevenson, G.W. (Eds.). 10th Ed. Blackwell Publishing, Ames IA, EUA. Pp 387-417. 2012.