
CONTROL SANITARIO DE LOS VERRACOS EN UN CENTRO DE PRODUCCION DE SEMEN

Dr.G.Decuadro-Hansen
Director Técnico IMV technologies
10,Rue Clémenceau 61302, L'Aigle, FRANCE
e-mail : IMVGDH@wanadoo.fr

INTRODUCCION

La biotecnología de la reproducción animal comprende clásicamente tres generaciones : la primera, la mas antigua, es la inseminación artificial ; la segunda, que comenzó a desarrollarse en la década de los 70 es el trasplante de embriones ; la tercera se encuentra en vías de desarrollo y esta constituida por, el sexado, la fecundación in vitro y la clonación (32) .

El interés común de estas biotecnologías es el de contribuir al mejoramiento sanitario de las granjas ; de esta manera las mismas han permitido y permiten disminuir el riesgo sanitario gracias a la supresión del contacto directo entre los animales reproductores machos y hembras.

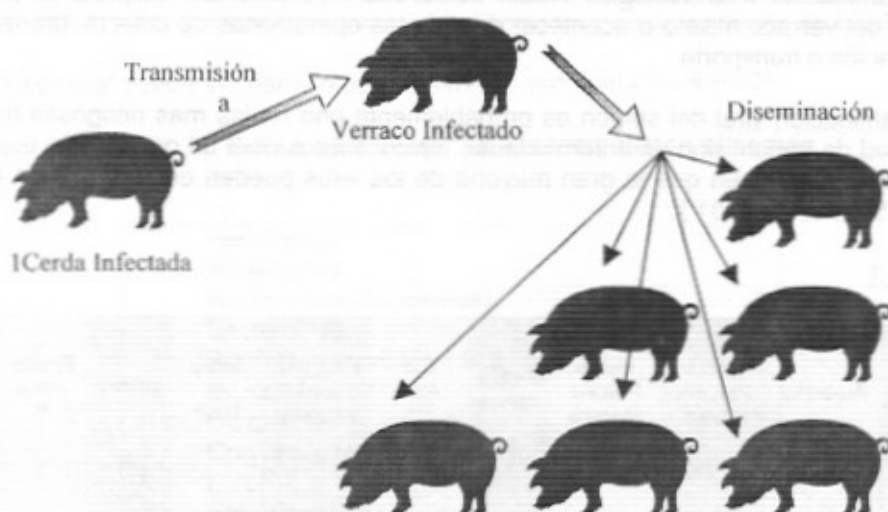
En la especie porcina solamente la primera biotecnología de la reproducción, la inseminación artificial (IA),se ha desarrollado y expandido a nivel de granja. El crecimiento de la IA porcina en los últimos años ha sido espectacular ; hoy en día se estima que de los 72 millones de cerdas presentes en el mundo más del 25 % son cubiertas gracias a la IA.(8). Evidentemente este método de reproducción se ha impuesto frente a la monta natural por las ventajas que presenta : disminución del número de verracos en la granja, utilización de reproductores de alta calidad genética permitiendo un mejoramiento general del hato, explotación al máximo del manejo en lotes o grupos, obtener porcentajes de fertilidad iguales o superiores a los obtenidos en monta natural, facilitar el manejo reduciendo el tiempo y el trabajo/monta, un mejor control de la calidad del semen, y un mejor control sanitario (8).

En esas condiciones específicas, los riesgos sanitarios ligados a las enfermedades « sexualmente transmisibles » pueden ser teóricamente fácilmente controlados.

La IA permite así obtener una protección reciproca de los reproductores machos y hembras evitando la contaminación de las hembras por el intermedio de machos infectados o previendo la contaminación de los machos durante el coito en el caso de hembras infectadas (Figura 1).

Figura 1

Ejemplo de Riesgo Sanitario



Sin embargo, si bien el riesgo sanitario asociado a esta biotecnología se encuentra fuertemente disminuido si lo comparamos a la monta natural, es necesario tener en cuenta que el simple hecho de separar los machos de las hembras y de realizar la IA no permite controlar el riesgo sanitario si no se toman un conjunto de medidas en paralelo. Sabemos en efecto que numerosos agentes patógenos, bacterianos o virales, pueden estar presentes en el semen ya sea porque colonizaron el aparato genital de los machos reproductores o porque los mismos se encuentran en el medio ambiente en el cual vive el reproductor. En esas condiciones desfavorables, la contaminación del semen colectado es frecuentemente observada lo que compromete su utilización en IA o puede inducir un proceso infeccioso en las hembras inseminadas.

La contaminación microbiológica del semen por agentes patógenos mayores o banales puede ocasionar una reducción en el desempeño reproductivo de fertilidad y prolificidad, de las granjas a través de procesos como endometritis, mortalidad embrionaria, o enfermedad sistémica (19,31).

Es interesante recalcar que no solo los agentes patógenos « mayores » pueden desencadenar un problema a nivel de granja a partir de semen « contaminado » ; así por ejemplo en Francia fue comprobado que la utilización de semen de verracos provenientes de un centro de IA con un status sanitario convencional sobre cerdas sin problemas sanitarios puede originar manifestaciones clínicas 24 h después de haber practicado la IA (fiebre > 40,5°C, anorexia y repetición de celo) . El examen bacteriológico del semen reveló la presencia de *Serratia liquefaciens*, patógeno oportunista resistente al antibiótico utilizado en ese CIA (19).

El uso de semen contaminado puede por lo tanto desencadenar un proceso infeccioso en la cerda ; la intensidad de dicha infección puede agravarse si dicho semen es conservado durante mas de 2 días y si la hembra no se encuentra en celo en el momento de la IA (3).

TRANSMISION DE CONTAMINANTES POR EL SEMEN DE CERDO

La contaminación microbiológica (virus, bacterias, mycoplasmas, etc) del semen puede provenir del verraco mismo o acontecer durante las operaciones de colecta, procesamiento, conservación o transporte.

La contaminación viral del semen es probablemente una de las mas riesgosas debido a la posibilidad de transmisión de enfermedades epizooticas a nivel de granja. Los especialistas en virología reconocen que la gran mayoría de los virus pueden encontrarse en el semen, (9 ;14 ;15 ;19 ;26 ;27 ;31).

Cuadro 1

Enfermedades	Aujeszky	Fiebre Porcina clásica	Fiebre Porcina africana	Fiebre Aftosa	Ojo Azul ***	Enfermedad Vesicular	Gripe y TGE*	PRRS	Entero-virus **	Adeno-Reo virus	Parvo-virus
Aislamiento Viral Demostrado en el semen	SI	SI	SI	SI	???	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Riesgo potencial de transmisión	Existe	Existe	Existe	Bajo	Existe	Bajo	Bajo	Existe	Existe	Bajo	Existe

Cuadro 1 : Transmisión de enfermedades virales por el semen de verraco

*TGE= Gastroenteritis transmisible

** :Incluye enfermedad de Teshen

*** Aislado experimentalmente de testículo, cola del epidídimo, vesículas seminales y bulbouretrales (27 bis)

La presencia de estos virus en el semen es sobre todo importante en la fase aguda de la enfermedad cuando la misma se acompaña de una « viremia »(19) ; no obstante el hecho de que la mayoría de las virosis ocasionan manifestaciones clínicas pronunciadas (fiebre, postración, anorexia, etc) debería disminuir el riesgo de diseminación siempre y cuando los reproductores sean aislados y no colectados. Sin embargo en la práctica , las manifestaciones clínicas son variables según las cepas y según los verracos ; a su vez durante el período de incubación de la enfermedad los reproductores pueden « excretar » virus en el semen sin manifestaciones clínicas aparentes como en el caso de la fiebre aftosa(34).

Una de las particularidades de las virosis es la existencia de animales infectados en estado « latente » los cuales pueden reactivarse y excretar virus bajo determinadas circunstancias como stress, transporte, tratamiento corticosteroide, etc (14 ;19 ;23) , así el virus de la enfermedad de Aujeszky fue aislado de verracos « clínicamente sanos » y vacunados.(21 ;25)

La contaminación bacteriana del semen ocurre, habitualmente, durante las operaciones de colecta o de tratamiento in vitro del semen (31). Los gérmenes normalmente presentes en el semen colectado pueden provenir de : los testículos y glándulas anexas, prepucio y su divertículo, aparato urinario, o de localizaciones diversas (piel del verraco, materias fecales, aerosoles, polvo, manos del operador, material de colecta y de preparación de las dosis (19).

Esta flora seminal puede ser banal o potencialmente patógena (Cuadro 2)

Cuadro 2 : Principales bacterias encontradas en el semen

Aerobacter
Alcaligenes
Bacillus (subtilis, cereus)
Bacteroides
Bordetella bronchiseptica
Brucella suis
Citrobacter
Corynebacterium (Suis, pyogenes)
E.coli
Enterobacter
Klebsiella
Micrococcus
Moraxella
Neisseria
Peptostreptococcus
Proteus
Pseudomona aeruginosa
Serratia
Staphylococcus (epidermidis, aureus)
Streptococcus (D, L, C, E ... y hemolítico)

Así, ciertas bacterias presentan una importancia mayor debido a las manifestaciones clínicas asociadas a su presencia como *Brucella suis* responsable de orquitis en el verraco o a su acción directa sobre los espermatozoides (aglutinación) (3). La mayoría de las especies bacterianas presentes en el semen son mencionadas en el cuadro 2 (19 ;36)

Otros contaminantes eventualmente presentes en el semen son los Mycoplomas, (*hyopneumoniae*, *hyorhinis* y *verecundun*) y los Ureaplasmas (19 ;24 ;30 ;36) sin embargo no existe consenso general respecto a su presencia en el semen ya sea debido a la baja frecuencia de aislamientos realizados a partir de muestras de semen o a las dificultades prácticas para poner en evidencia estos agentes por cultivo microbiológico (19 ;31).

En fin, la flora seminal puede contener otros agentes como *levaduras* ; las mismas generalmente provienen de contaminaciones exógenas o del medio ambiente (19).

CONTROL SANITARIO EN LOS CPS

En la mayoría de los países que practican la IA porcina coexisten hoy en día 2 sistemas de reproducción: la IA con producción de semen en la granja (conocido por los anglosajones como, *do it yourself DIY-AI*) o la IA por compra de semen a partir de un centro de producción. La opción por el DIY-AI o por la compra de semen en un centro de producción depende de muchos factores y no debe limitarse al simple número de cerdas existentes en la granja.

Los centros de producción de semen (CPS) deben permitir a los poricultores el acceso a reproductores de alta calidad genética así como la garantía sanitaria/biológica del semen comercializado. En este sentido y desde un punto de vista sanitario los CPS deben manejar el concepto de « riesgo sanitario cero » o « fortaleza sanitaria »(15 ;32).

Hemos visto en numerosas ocasiones cuan frágiles pueden ser nuestras estructuras de IA si no se toman medidas sanitarias draconianas. Así por ejemplo algunos CPS fueron responsables de la transmisión del virus de la Peste Porcina Clásica o del PRRS a granjas comerciales durante los últimos años en Europa (14 ;31). De esta manera, la venta de semen infectado ocasiona una difusión rápida de la enfermedad debido al gran número de cerdas susceptibles de ser inseminadas con el mismo semen (32).

El concepto sanitario ligado a la IA ha evolucionado en estos últimos años en los CPS; de esta manera los responsables de los mismos apuntan hoy en día, a una doble exigencia: la de comercializar semen indemne de patógenos específicos y la de maximizar el control de los riesgos de la transmisión de las enfermedades contagiosas entre los verracos del CPS. Los profesionales veterinarios responsables del control sanitario de los CPS son conscientes de las consecuencias desastrosas sobre el plan financiero y genético de la introducción en el centro de un agente bacteriano o viral responsable de una enfermedad infecciosa. El protocolo sanitario así como el rigor de su aplicación constituyen por lo tanto las herramientas fundamentales que permiten conservar el control de los riesgos sanitarios mayores.

La introducción de agentes patógenos en un CPS se debe generalmente a una falla en uno de los eslabones de la cadena de control de estos riesgos sanitarios. Así son considerados riesgos sanitarios mayores para un CPS son: 1) Los vectores animales: verracos, animales presentes en el perímetro del CPS y animales salvajes; sin duda los más importantes; 2) Los vectores humanos: personal del CPS así como los visitantes y en fin 3) Los fomites: aire, viento.

No existe un « protocolo » o « método » ideal de control sanitario en un CPS, en efecto la gestión de los riesgos sanitarios es un conjunto de medidas que debe « adaptarse » a la epidemiología del país y en particular de la zona donde se encuentra el CPS (20).

Regla de implantación del CPS

La presencia de agentes de carácter patógeno en un CPS no es nunca obra del « azar », sino el resultado de un conjunto de circunstancias que tarde o temprano desencadenaran un problema.

Con el finalidad de disminuir la « presión de infección » en la zona del CPS, es altamente beneficioso, instalar el mismo en el centro de un perímetro de 3-5 Km sin granjas porcinas (1 ;3 ;15 ;22 ;33). Figura 2.

Control del Riesgo Sanitario

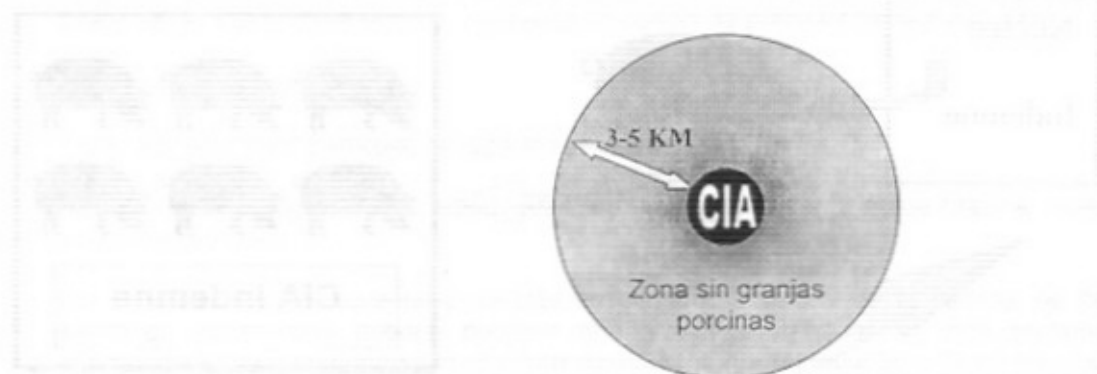


Figura 2

Esta ubicación contribuye a reducir el riesgo de introducción de enfermedades vía fomites como la fiebre aftosa (10 ;11 ;29) ; Aujeszky (4 ;5 ;6 ;12) el PRRS (28 ;34) o la neumonía enzootica (13). Debido a la replicación intensa de algunos virus porcinos a nivel pulmonar (Aujeszky, PRRS) la transmisión por vía aérea puede acontecer ya sea en distancias cortas por ej. PRRS menor a 3 Km,(34) o grandes por ejemplo el virus de la Fiebre Aftosa o el herpesvirus de Aujeszky. Así por ejemplo en 1986 , 50 focos de Aujeszky fueron detectados en Dinamarca provenientes de un foco original de infección en el Norte de Alemania (transmisión aerógena)(5 ; 34).

El aislamiento de un CPS constituye por lo tanto, la primera medida de protección sanitaria a considerar a los efectos de mantener un rebaño de verracos indemnes de enfermedades.

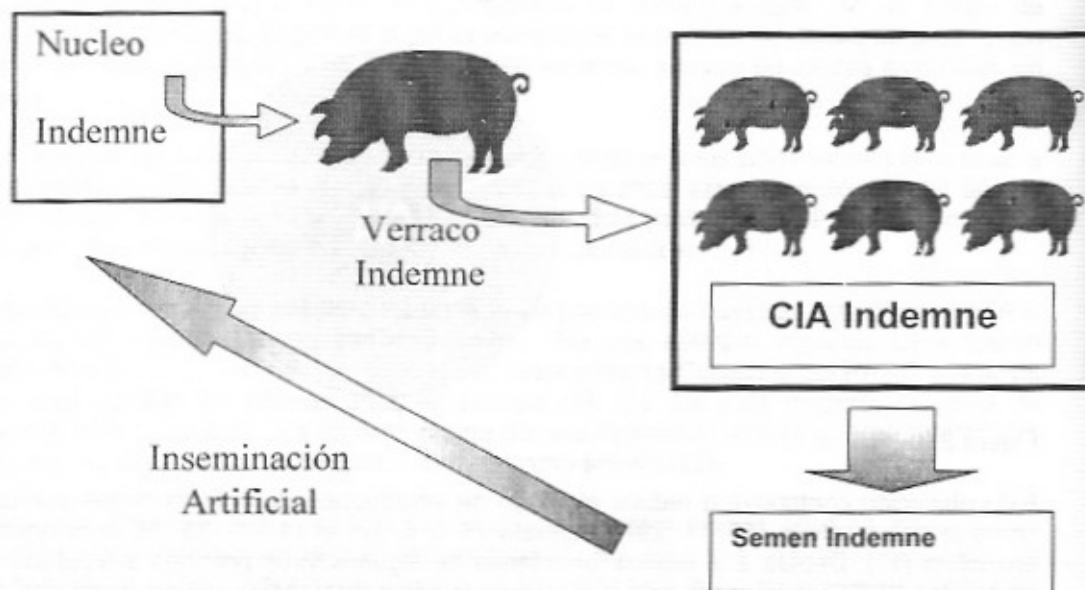
Es importante tener en cuenta que mismo la cuarentena del CPS debe ubicarse fuera de este « perímetro sanitario ».

Condiciones de ingreso de los reproductores

Dependiendo de las condiciones sanitarias del país y de la zona de ubicación, la entrada de los verracos jóvenes en un CPS constituye el mayor riesgo sanitario de ingreso de agentes patógenos. En este sentido la regla epidemiológica en los CPS debe basarse en el reclutamiento de individuos indemnes de toda enfermedad infecciosa lo que garantiza la obtención de semen de alta calidad sanitaria (Figura 3) (32).

Figura 3

La regla epidemiológica específica



La aplicación rigurosa de este concepto, simple teóricamente pero difícil en condiciones prácticas ha sido la base de los actuales reglamentos sanitarios aplicados a nivel de algunos países de la CEE como Francia (Directiva 90-429 del 26/06/90 y 91-630 del 19/11/91)

De esta forma, este país ha mantenido un status sanitario ejemplar en todos los CPS desde 1993 hasta la fecha; la siguiente es la descripción de la metodología de control sanitario empleada en este país.

El ingreso de verracos jóvenes en un CPS debe realizarse a partir de un núcleo indemne de las enfermedades infecciosas mayores: Fiebre Porcina Clásica, Brucelosis, Aujeszky, PRRS, Fiebre aftosa, etc. En efecto existen dos riesgos mayores ligados a la introducción de los verracos jóvenes en un CPS, el primero es la introducción de un agente patógeno ausente en el mismo y el segundo es la presencia de microorganismos en el CPS los cuales no existen en el núcleo genético. Por ende es necesario exigir una compatibilidad sanitaria entre el núcleo genético « donador » y el CPS « receptor »; un desequilibrio en cualquiera de los dos sentidos conducirá a problemas tarde o temprano (20).

Medidas de control sanitario en el CPS

A) Controles de precuarentena

Los verracos jóvenes candidatos a ingresar en la cuarentena de un CPS son controlados en la granja núcleo genético por el veterinario del CPS, 30 días antes del ingreso en la cuarentena. Estos controles son calificados de control de precuarentena e incluyen:

- + Un examen clínico general
- + Un examen clínico particular del aparato genital
- + Un control serológico de las enfermedades siguientes: Fiebre Porcina Clásica, Aujeszky, Brucelosis y PRRS.

Los controles de precuarentena constituyen el primer eslabón de la cadena de control sanitario, los mismos pueden prevenir el ingreso de verracos ya sea presentando enfermedades que comprometan el futuro desempeño del reproductor o la introducción de un animal serológicamente positivo para las enfermedades mencionadas. El mantenimiento de los controles de precuarentena así como el rigor de los mismos debe ser preocupación del veterinario responsable del CPS ya que el status sanitario del núcleo genético puede evolucionar en el tiempo.

B) Controles de cuarentena

Solamente los verracos que obtuvieron resultados favorables clínicamente y negativos serológicamente ingresarán en la cuarentena del CPS la cual se encuentra a 5-6 Km del mismo.

La cuarentena debe funcionar como un sistema « all-in all-out »; durante el periodo de aislamiento que dura entre 40-45 días los verracos jóvenes serán controlados para:

- + Control sanitario del semen
- + 2 controles serológicos con un intervalo de 3 semanas; el primero se efectúa 3 semanas después del ingreso de los animales a los efectos de dejar que los animales tengan el tiempo de reaccionar. Son controlados: Peste Porcina Clásica, Aujeszky, Brucelosis, PRRS, y *Leptospira* (serovariedades *pomona*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *bratislava*, *ballum*).

Teniendo en cuenta que un solo animal positivo puede ser la causa de la eliminación de todo el grupo de verracos, es conveniente introducir un número reducido de animales a la vez.

El periodo de cuarentena permite, asimismo, crear un « banco de suero congelado » destinado a la identificación de una infección a nivel del CPS(20).

En el caso específico de Francia la política que se adoptó con respecto a el ingreso de los verracos jóvenes en los CPS fue y es la de no permitir el ingreso de animales vacunados contra las enfermedades virales mayores del cerdo (Aujeszky, PPC, PRRS, etc).

Efectivamente es hoy en día evidente que las vacunas no impiden ni la infección, ni la replicación viral en fase aguda, ni la instalación de una infección de carácter latente como en el caso de la enfermedad de Aujeszky. La excreción de virus a partir de verracos vacunados es generalmente menor que en el caso de una infección, no obstante existe y ha sido

confirmada en el cerdo para la enfermedad de Aujeszky (35); la Fiebre aftosa (18) y el PRRS (virus vacunal)(2;7). Las vacunas no pueden por lo tanto substituir las medidas de profilaxis sanitaria en un CPS; la utilización de vacunas « marcadas » no cambia la situación ya que las mismas tampoco impiden excreción viral cuando los animales son infectados por una cepa de campo. (34).

C) Controles en el CPS

Cuando los controles realizados en la estación de cuarentena fueron negativos, los verracos pueden ingresar en el CPS para comenzar con la producción de semen. Durante toda su vida productiva los verracos serán sometidos a un control cuya periodicidad depende de la enfermedad a controlar así por ejemplo PPC y Aujeszky cada 3 meses; Brucelosis, control sanitario del semen y exámen clínico del verraco 1 vez/año.

Con la finalidad de monitorear el perfil serológico del CPS, es altamente recomendable realizar un control serológico (PRRS, PPC, Aujeszky) cada 15 días sobre 1/6 de los animales presentes en el mismo. Utilizando un protocolo de rotación de verracos, cada animal del CPS es entonces controlado cada 3 meses(15).

Todo reacción positiva o dudosa debe desencadenar una alerta en el CPS con dos acciones inmediatas: a) aislamiento de los verracos positivos y control de confirmación, y b) detener la comercialización de todo el semen del centro. La actividad del centro volverá a la normalidad después de realizar 2 controles a 3 semanas de intervalo así como después de haber eliminado el animal positivo.

Precauciones complementarias y reglas de higiene

No es el propósito de este artículo detallar las normas de bioseguridad interna, no obstante las mismas complementan el control del riesgo sanitario en un CPS. Estas precauciones incluyen:

- + El aislamiento del CPS por medio una cerca perimetral de 2 metros de altura (enterrada 15 cm en el suelo) acompañado de un retorno hacia el exterior en la parte superior
- + Prohibir las visitas
- + El ingreso del personal debe realizarse obligatoriamente por un vestuario con ducha, con cambio total de la ropa y botas
- + Prever un estacionamiento en el exterior de la cerca perimetral del CPS
- + Impedir el ingreso de camiones en el perímetro de la cerca del CPS
- + Controlar presencia de roedores y moscas
- + Limpieza y desinfección del laboratorio y de la nave de verracos
- + Vigilancia cotidiana del estado de salud de los verracos
- + Higiene de la colecta y del tratamiento del semen
- + Utilización de material desechable en un 100%, etc.

CONCLUSION

La organización piramidal del dispositivo de mejoramiento genético necesita un control sanitario riguroso del CPS para evitar la difusión de un agente patógeno mayor. En efecto el control sanitario y la práctica de la bioseguridad interna en un CPS no son ciencias « contemplativas » sino ciencias de « acción ». En este sentido el veterinario del CPS debe multiplicar los controles sanitarios a los efectos ya sea de confirmar la presencia de una enfermedad o para certificar su ausencia lo cual es mucho mas difícil.

La conservación de un status sanitario alto es una de las garantías mayores que un CPS puede dar a los poricultores usuarios.

Este es el gran desafío que la profesión veterinaria tiene.

Bibliografía consultada

- 1) Boar stud isolation and health guidelines ; AASP.
- 2) Albina,E. 1997, Vet.Res.28,305-352.
- 3) Althouse ,G.In : Quality control strategies to enhance boar stud productivity and producers satisfaction. AASP Swine reproduction workshop 10,AASP 1997 ,Quebec.
- 4) Christensen,LS ;Mousing,J ;Mortensen,S ;Sorensen,K.J ;Stranbygaard,SB ;Henriksen,CA and Andersen,JB.1990a. Evidence of long distance airborne transmission of Aujeszky's disease (pseudorabies)virus.Vet.Rec,127,471-474.
- 5) Christensen,LS ;Sorensen,KJ ;Stranbygaard,SB ;Henriksen,CA and Andersen,JB.1990 b Evidence of long distance airborne transmission of Aujeszky's disease virus.I :Identification of emerging strains.In :Proc.IPVs Lausanne,Switzerland,206.
- 6) Christensen,LS ;Standbygaard,SB ;Henriksen,CA ;Andersen,AB and Andersen,JB.1989 Aujeszky's disease in Denmark :The epizootiological situation in winter 1987-1988 studied by restriction fragment pattern analysis.Saertryk af Dansk Veterinaertidss Krift,72,322-325.
- 7) Christofer-Hennings,J ;Nelson,EA ;Nelson,JK ;Benfield,A.1997 Am.J.Vet.Res. ,58(1)40-45.
- 8) Decuadro-Hansen G. Avances en inseminacion artificial porcina. 1^{er} Congreso Rioplatense de Produccion Porcina, 5-7 Noviembre 1998,Uruguay.
- 9) FAO Lutte contre les maladies dans le sperme et les embryons. 1982, 1-19.
- 10) Gloster,J ;Blackall,RM ;Sellers,RF ;and Donaldson,AI.1981 Forecasting the airborne spread of Foot-and-mouth disease.Vet.Rec.108, 370.
- 11) Gloster,J ;Sellers,RF ;and Donaldson,AI.1982 Long distance transport of Foot-and-mouth disease virus over the sea.Vet.Rec.110, 47-52.
- 12) Gloster,J ;Donaldson,AI and House,MN ;1984 Analysis of a series of outbreaks of Aujeszky's disease in Yorkshire in 1981-1982 : The possibility of airborne disease spread. Vet.Rec.114,47-52.
- 13) Goodwin,RFW ;1985 Apparent reinfection of Enzootic pneumonia free pig herds :Search for possible causes.Vet.Rec.116,690-694.
- 14) Guerin,B.Control of PRRS in French AI centres.6th European AI Vets, Peebles,UK 1994.
- 15) Guerin,B. Le contrôle sanitaire des verrats.BTIA Dec.1994,p 10-12.

- 16) Guerin,B.Viral excretion in boar semen and potential for contamination. In :III Int.Conf. on boar semen preservation and held at Mariensee,Germany Aug.1995, 217-222.
- 17) Larsen,RF ;Shape,RE ;Leman AD . Am.J.Vet.Res.1980,41,733-739.
- 18) Mann,JA ;Sellers,RF .1989 In :Virus infections of porcines Vol.2 Pensaert Ed.Elsevier,283p.
- 19) Madec,F ;Vannier,P.La contamination de la semence de verrat : risques encourus et règles à respecter.In :Le Point Vétérinaire,vol.21,n°121,Avril-Mai 1989.
- 20) Martineau,GP. Maladies d'élevage des porcs. Manuel pratique. Ed.France Agricole 1997,479p.
- 21) Medveczky,I ;Szabol. ACTA Vet.Acad.Sci. Hungaricae,1981.29,29-35.
- 22) Moore,C.Biosecurity and minimal disease herds.Vet.Clin.Nort.Am ;Food Ani.Pract.1992,Nov.8(3)461-474.
- 23) Nauwynck,H. Role of PRRS virus in reproductive failure of sows. 10th European AIVets.28-30 Oct.1998 Belgium.
- 24) Nord Vet. Med. Studies on the possible occurrence of Mycoplasmas in boar semen. 1975, Nov.27(11) :557-561.
- 25) Ohlinger,V ;Witzman,G ;Deutsch Tierarztliche wochen schrift 1984,91 :100-102.
- 26) Phillips,RM ;Lukert,PD. Isolation and characterisation of viruses from semen and the reproductive tract of male suine. JAVMA Vol.161,N°11,Dec.1972,1306-1316.
- 27) Philppot,M. The dangers of disease transmission by artificial insemination and embryo transfer.Br.Vet.J.1993,149,339-369.
- 27 bis) Ramírez H. Patogenia en el tracto reproductivo masculino en cerdos infectados experimentalmente con la Cepa III del Paramyxovirus, espermatobioscopias, biometrias, serologia y aislamiento. First International Symposium upon pig paramyxovirus. Puebla, México 1994.
- 28) Robertson,IB.1992 New pig disease up date :epidemiology of PRRS.Pig Veterinary Journal 29,186-187.
- 29) Sellers,RF and Gloster,J.1966 .The Northumberland epidemic of Foot-and-mouth disease,1966.J.Hyg.Camb.85 :129-140.
- 30) Smith AJ ;Bouma A. The spread of classical swine fever via artificial insemination. In 10th European AI Vets meeting,28-30 Oct.1998,Belgium
- 31) Thacker,BJ ;Larsen,RE ;Joo,HS ;Leman,AD.Swine diseases transmissible with artificial insemination. JAVMA,Vol.185,N°5,Sept.1984,511-516.
- 32) Thibier,M and Guerin,B.Les biotechnologies de la reproduction et l'amélioration sanitaire du troupeau. Rec.Med.Vet.N° Spécial Reprod.des Rum. 249-258.
- 33) Tubbs,P.Artificial insemination as a health strategy. In :AI tools for profitable pork production. July,18-19 1995,Minnesota,98-103.
- 34) Vannier,P ;Kobish,M ;Le Potier,MF ;Mesplède,A ;Madec,F ;Albina,E. Le vaccins et leurs utilisation intégrée dans les stratégies de lutte contre les grandes maladies infectieuses du porc. J.R.P 1998,30,389-398.
- 35) Vannier,P ;Hutet,F ;Bourgeuil,E ;Lariolet,R.1991 Vet.Microbiol.29,213-223.
- 36) Wallgren,M. Mycoplasma and bacterial content in raw semen from swedish AI-boars. 6th European AIVets,Billund,Denmark 1996.