

Effet de la génétique Piétrain sur l'expression clinique de la maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP) Etude dans 4 élevages naisseurs-engraisseurs

*Nicolas ROSE, Alain ABHERVÉ-GUÉGUEN, Gérald LE DIGUERHER, Eric EVENO, Jean-Pierre JOLLY,
Philippe BLANCHARD, Aurélie OGER, André JESTIN, François MADEC.*

AFSSA-Site de Ploufragan, Zoopole, B.P. 53, F22440, Ploufragan

Effet de la génétique Piétrain sur l'expression clinique de la maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP). Etude dans 4 élevages naisseurs-engraisseurs.

Nous avons évalué l'effet de la mise en place du Piétrain en race pure pour le verrat terminal sur la survenue de l'expression clinique de la maladie de l'amaigrissement du porcelet chez la descendance. Une étude de cohorte a été conduite dans 4 élevages affectés par la maladie et 540 porcs identifiés ont été suivis individuellement depuis la naissance jusqu'à l'abattage. 50% des porcs suivis ont pour père un verrat Piétrain de race pure et l'autre moitié dérive de la génétique usuellement utilisée dans l'élevage. Les données ont été analysées en utilisant la méthode statistique dite d'analyse de survie. Aucun effet protecteur de la race Piétrain pure sur la survenue de la MAP chez la descendance n'a pu être mis en évidence dans cette étude. En revanche, une mauvaise immunité maternelle vis-à-vis du PCV-2 et une séroconversion précoce des porcelets au regard de ce même virus sont clairement associées à un risque accru de développer la maladie. De même, l'infection active des mères par le parvovirus au cours de la gestation ainsi que la présence d'abcès (encolure des truies) consécutifs à des injections mal réalisées sont associées à un risque augmenté chez la descendance.

Effect of the Pietrain breed on clinical post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). A cohort study in four farrow-to-finish herds.

We tested the effect of the implementation of the Pietrain breed in the boar on the occurrence of clinical PMWS in the offspring. A cohort of 540 pigs raised in 4 PMWS affected farms were followed from birth to slaughter. 50% of the followed pigs derived from a Pietrain boar and the other half derived from the classical breed used on the farm. The data were analysed using survival analysis. No protective effect of the Pietrain breed could be found. On the other hand, we found that piglets with poor passive immunity (against PCV-2) and which further seroconverted sooner than the others were more likely to be clinically affected. Active infection of the dams by the parvovirus and the presence of neck injuries due to badly managed injections were significantly related to an increased risk of clinical PMWS in the offspring.

INTRODUCTION

La maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP) est aujourd'hui d'actualité en association avec d'autres syndromes infectieux (PALLARÉS et al., 2002) rendant ces derniers beaucoup plus difficiles à combattre que par le passé. La communauté scientifique s'accorde dorénavant sur le rôle pivot du circovirus de type 2 dans la pathogénie de cette maladie. Il n'en reste pas moins qu'il existe de nombreux points obscurs quant aux circonstances conduisant à l'expression clinique de la MAP.

Le circovirus porcin de type 2 (PCV-2) est un élément central dans la maladie de l'amaigrissement du porcelet (ALLAN et al., 1998 ; ELLIS et al., 1998 ; SEGALÉS et DOMINGO, 2002). Cependant ce virus est très largement répandu dans la population porcine y compris dans les élevages ne présentant aucune manifestation clinique de la maladie (CALSAMIGLIA et al., 2002). En raison de son caractère émergent avec une expression clinique variant selon les élevages, l'éventualité d'une résistance génétique mérite d'être envisagée. L'enquête épidémiologique analytique réalisée en 2000-2001 (ROSE et al., 2003) n'a pas permis de mettre en évidence un éventuel effet protecteur de tel ou tel type génétique. En ce qui concerne la race Piétrain, utilisée en verrat terminal, le faible nombre des élevages inclus dans l'enquête ayant mis en place ce type génétique ne nous avait pas permis de conclure de manière satisfaisante. Par ailleurs, d'après nos connaissances, l'influence du type génétique sur la survenue des symptômes de la MAP chez la descendance n'a jusqu'à présent pas été étudiée. Des observations ont cependant été rapportées par les vétérinaires et techniciens de terrain, notamment en ce qui concerne l'utilisation de verrats de race Piétrain en tant que verrat terminal.

Le but de cette étude a été d'évaluer, dans les conditions réelles d'élevage, un éventuel effet protecteur de la race Piétrain utilisée en tant que verrat terminal, sur l'expression clinique de MAP chez la descendance.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Type d'étude et information collectée

Une étude de cohorte a été mise en place dans 4 élevages naisseurs-engraisseurs affectés par la maladie de l'amaigrissement du porcelet. Le diagnostic à l'échelon de l'élevage a associé l'autopsie et l'étude des lésions histologiques chez 2 porcs cliniquement affectés ainsi qu'une élévation significative des pertes liées à la maladie. Avant insémination, les truies sont affectées par tirage au sort aux deux modalités expérimentales : semence de verrat «piétrain pur» *versus* semence habituellement utilisée dans l'élevage (appelé ici verrat X).

Les truies ont été suivies au cours de la gestation et des prises de sang ont été réalisées pour rechercher les anticorps dirigés contre le circovirus de type 2. Ces prises de sang ont été réalisées avant insémination, en cours de gestation (70 jours) et après la mise-bas.

Deux bandes successives ont été suivies de cette façon au sein de chaque élevage. A la naissance et pour chacune des

bandes suivies, deux groupes de porcelets ont été constitués : le premier groupe correspond aux descendants des verrats de race pure Piétrain, le second groupe est issu de la génétique classique de l'élevage. Les porcs des deux groupes sont mélangés au sein des salles et donc soumis aux mêmes conditions de milieu (hébergement, alimentation, conduite). Dans chacun des groupes, un échantillon de 30 porcelets est constitué de manière aléatoire en stratifiant sur la portée (au moins 2 porcelets par portée). Les porcelets ont été identifiés (tatouage + boucle) et suivis de manière individuelle depuis la naissance jusqu'à l'abattage. Des observations et prélèvements ont plus particulièrement été réalisés au sevrage, puis à 8, 13, 16 et 21 semaines d'âge et enfin à l'abattoir. Le poids individuel des animaux ainsi que les signes cliniques ont été enregistrés à ces différentes dates. Le gain moyen quotidien a été calculé pour chaque période et un groupe d'animaux de référence extériorisant les meilleures performances de croissance a été défini pour chaque élevage et pour chaque type génétique tel que le 3^{ème} quartile de la distribution du GMQ pour la période considérée. L'hypothèse est faite que ces animaux n'ont été affectés par aucun trouble morbide. Les prises de sang ont fait l'objet d'analyses sérologiques afin de rechercher les anticorps dirigés contre le circovirus porcin de type 2 (PCV 2) (BLANCHARD et al., 2003), le parvovirus porcin et le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP). Les organes (dont les poumons, ganglions trachéo-bronchiques, reins) ont été observés de manière individuelle à l'abattoir. Enfin les conditions d'élevage (surfaces des cases, densités, hygiène des locaux à l'arrivée, ...) ont aussi été enregistrées.

Le principal effet à tester est le type génétique (Piétrain *versus* Autre) mais en tenant compte des autres facteurs tels que les cofacteurs infectieux, les conditions de logement, la conduite.

1.2. Définition de la variable à expliquer

La variable à expliquer est le délai de réalisation de l'événement : passage d'un statut cliniquement sain à un statut suspect de MAP. Ce statut au regard de la MAP a été défini comme l'association d'une réduction significative de la croissance (<65 % du GMQ du groupe de référence) à la présence de manifestations claires de dépérissement (colonne vertébrale faisant saillie), assortie d'une augmentation importante de la taille des ganglions inguinaux à la palpation (au moins 2 fois la taille normale). Les porcs morts de MAP avérée (autopsie, histologie et HIS significatives) ont aussi été inclus dans ce groupe. Les porcs ayant exprimé des symptômes cliniques et, par la suite, ayant retrouvé un état de santé normal ont été inclus ou non selon les analyses.

1.3. Analyses statistiques

L'analyse des données a été réalisée en utilisant la méthode d'analyse de survie (proc LIFETEST et PHREG ; SAS INSTITUTE INC., 2000) en prenant en compte les corrélations à l'intérieur de chaque élevage grâce à l'estimation robuste de la matrice de covariance (LIN et WEI, 1989). Toutes les variables ont au préalable été testées de manière individuelle

en recherchant une éventuelle relation significative avec le délai de réalisation de l'événement (apparition de la clinique MAP). Le seuil $\alpha = 0,25$ a été retenu pour cette première phase de sélection (tableau 1). La validité de l'hypothèse des risques proportionnels a été testée pour les variables significativement associées au temps de réalisation de l'événement en utilisant la méthode des résidus Schoenfeld (SCHOENFELD, 1982). Un modèle de régression multivarié (modèle de Cox à risques proportionnels) a ainsi été construit pour les variables sélectionnées et vérifiant cette hypothèse en utilisant une procédure de sélection de type «stepwise». Seules les variables significatives au risque de 5 % ont été conservées dans le modèle final.

Cette procédure a été mise en place pour deux analyses distinctes. En effet, l'observation individuelle des animaux au cours de leur croissance jusqu'à l'abattoir a permis rétrospectivement de distinguer 3 catégories de porcs. La plupart d'entre eux conservent tout au long du suivi un statut «sain», du moins en ce qui concerne la MAP. Une seconde fraction exprime de manière marquée une symptomatologie pouvant être rapportée à la MAP et évolue vers la mort ou conserve cet état morbide jusqu'à l'abattage. La troisième fraction est affectée au cours du suivi par des manifestations cliniques pouvant aussi être rapportées à la MAP mais par la suite retrouve un état de santé normal avec une croissance compensatrice (figure 1).

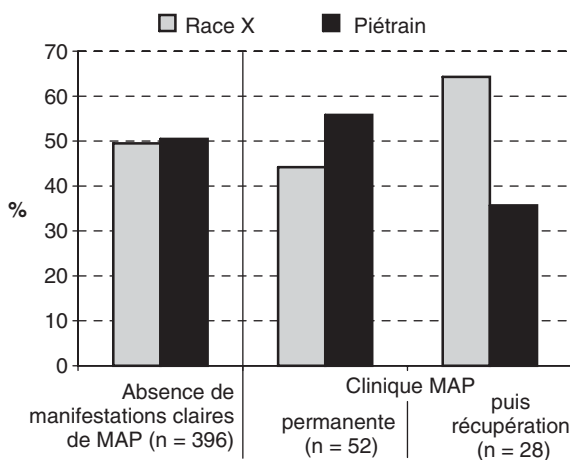


Figure 1 - Pourcentage de porcs issus de chaque génétique selon leur statut clinique à l'égard de la MAP

La première analyse statistique intègre donc les animaux classés suspects de MAP au cours du suivi puis convalescents par la suite dans le groupe des individus ayant réalisé l'événement (survenue de la clinique MAP). La seconde exclut ces individus pour ne conserver que ceux ayant exprimé des symptômes jusqu'au terme de leur suivi (mort en cours d'élevage ou abattoir).

2. RÉSULTATS

2.1. Cinétique de séroconversion (PCV-2) des animaux issus de la génétique Piétrain et de la génétique X

L'évolution du statut sérologique des animaux peut être analysée selon la méthode de l'analyse de survie où l'événement

pour un animal considéré est le passage du statut séro-négatif au statut séro-positif (figure 2). La majorité des animaux présente une séroconversion entre 75 et 100 jours d'âge. Aucune différence significative ($p=0,73$, test du log-rank) ne peut être mise en évidence entre le délai de séro-conversion au regard du PCV-2 et l'origine génétique des animaux (issus de race X ou Piétrain).

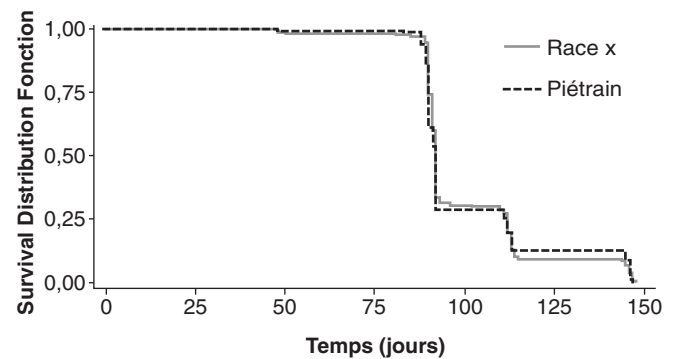


Figure 2 - Cinétique de séroconversion (PCV-2) des porcs issus de la génétique PIÉTRAIN et de la génétique X (événement : séroconversion PCV-2, $n=476$ porcs, 4 élevages naisseurs-engraisseurs, 2001-2002)

2.2. Etude de l'événement : «survenue de la clinique MAP»

En intégrant les animaux suspects de MAP puis convalescents dans le groupe des porcs ayant réalisé l'événement «survenue de la clinique MAP», le taux de prévalence des porcs affectés par la MAP au cours du suivi est de 18 %. Ce taux de prévalence chute à 13 % si les porcs convalescents sont exclus. Le délai d'apparition de la clinique MAP n'est pas significativement différent selon que les porcs sont issus de la génétique X ou de la génétique Piétrain ($p = 0,76$, test du log-rank, figure 3). Le résultat est identique si les porcs convalescents sont exclus en ne conservant que ceux ayant exprimé des symptômes jusqu'au terme de leur suivi. Les courbes de survie sont en revanche significativement différentes selon les élevages ($p<0,0001$, test du Log-rank) ce qui a justifié de traiter cet effet «élevage» en tant qu'effet margi-

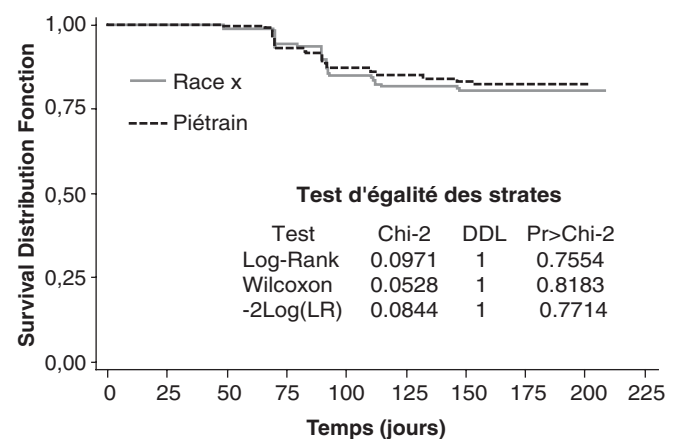


Figure 3 - Courbes de survie des porcs issus de la génétique PIÉTRAIN et de la génétique X (événement : apparition de la clinique MAP, $n=476$ porcs, 4 élevages naisseurs-engraisseurs, 2001-2002)

Tableau 1 - Variables retenues au stade de l'analyse univariée. Résultats des tests d'association avec la durée de survie de la clinique MAP selon les 2 analyses (prise en compte ou non des individus malades puis convalescents)

		Analyse 1 ^a (n=533)			Analyse 2 ^b (n=502)		
		% par catégorie	Hazard ratio	P ^c	% par catégorie	Hazard ratio	P ^c
Type génétique							
	Piétrain	50,2	1,0		51,1	1,0	
	Race X	49,8	1,07	0,80	48,9	0,83	0,54
Statut PCV-2 des mères en maternité							
	Positive	95,1	0,45	0,006	95,4	0,43	0,01
	Négative	4,9	1,0		4,6	1,0	
Statut PCV-2 des porcelets à 8 semaines							
	Positifs	60,6	0,68	0,02	60,9	0,66	0,03
	Négatifs	39,4	1,0		39,1	1,0	
Statut PCV-2 des porcs à 13 semaines							
	Positifs	77,9	1,71	0,0001	77,6	1,8	0,0001
	Négatifs	22,1	1,0		22,4	1,0	
Statut PCV-2 des porcs à 16 semaines							
	Positifs	88,5	1,61	0,0004	88,2	1,55	0,0001
	Négatifs	11,5	1,0		11,8	1,0	
Statut parvovirus des mères en gestation							
	Titre ≥ 10240	36,9	2,59	0,0001	36,7	3,6	0,0001
	Titre <10240	63,1	1,0		63,3	1,0	
Age au sevrage							
	≤ 20 jours	73,0	1,0		73,7	1,0	
	> 20 jours	27,0	0,49	0,002	26,3	0,13	0,05
Abscès au point d'injection (encolure des mères)							
	Absence	88,7	1,0		89,0	1	
	Présence	11,2	3,47	0,0001	11,0	4,43	0,0001
Porcelet issu de portée de plus de 15 porcelets nés vivants							
	Non	82,5	1		82,9	1,0	
	Oui	17,5	1,68	0,09	17,1	1,84	0,15
Porcelet issu de portée contenant au moins 1 momifié (entre 7 et 24 cm)							
	Non	91,9	1,0		92,0	1,0	
	Oui	8,1	1,81	0,04	8,0	2,05	0,01
Mère des porcelets fouillée à la mise bas							
	Non	57,8	1,0		57,8	1	
	Oui	42,2	1,35	0,19	42,2	1,55	0,22
Porcelet issu de truie déclenchée (injection de prostaglandines)							
	Non	20,3	1		20,9	1,0	
	Oui	79,7	1,50	0,26	79,1	1,32	0,54
Porcelet issu de truie ayant reçu une injection de sergotonine							
	Non	38,8	1,0		39,1	1,0	
	Oui	61,2	0,65	0,04	60,9	0,53	0,16
Porcelet issu de truie ayant reçu une injection d'ocytocine							
	Non	58,5	1,0		57,8	1,0	
	Oui	41,5	0,61	0,002	42,2	0,63	0,20

^aAnalyse 1 : les individus malades puis convalescents sont inclus dans le groupe «individus ayant réalisé l'événement : clinique MAP».

^bAnalyse 2 : seuls les individus malades jusqu'à la fin du suivi sont inclus dans le groupe des individus ayant réalisé l'événement.

^cP : Comparaison du hazard ratio estimé à la valeur 1 (avec prise en compte de l'effet «élevage»).

nal dans les modèles de survie à risques proportionnels. La prise en compte de cet effet élevage conduit à la même conclusion concernant l'origine génétique des animaux (tableau 1).

Les facteurs de risque de survenue de la clinique MAP chez les porcs suivis et mis en évidence dans les modèles multivariés, ne diffèrent pas considérablement selon les analyses (tableau 2). Le délai de survenue de la clinique MAP est principalement influencé par le statut sérologique des mères au regard du PCV-2 et du parvovirus porcin. L'infection acti-

ve des truies en cours de gestation par ce dernier augmente le risque de survenue de la clinique MAP (accroissement du risque de 2,5) alors qu'une bonne immunité maternelle au regard du PCV-2 semble nécessaire pour diminuer le risque d'apparition de la maladie chez la descendance (HR = 0,4). La séroconversion des animaux à 13 semaines par rapport à une séroconversion plus tardive vis-à-vis du PCV-2 est associée à un risque augmenté (HR = 1,3). La présence d'abcès aux points d'injections (encolure des truies) est aussi associée à un risque augmenté de survenue du syndrome chez les porcelets (HR = 2,9). Dans la première analyse, l'administra-

Tableau 2 - Modèles multivariés des facteurs de risque d'apparition de la clinique MAP chez les porcs suivis.
Modèle de Cox à risques proportionnels avec prise en compte de l'effet «élevage»
(540 porcs suivis, 4 élevages naisseurs-engraisseurs, 2001 – 2002)

	Analyse 1 ^a (n = 533)		Analyse 2 ^b (n = 502)	
	Hazard ratio	Intervalle de confiance (α=5%)	Hazard ratio	Intervalle de confiance (α=5%)
Statut PCV-2 des mères en maternité				
Positive	0,4	0,3 – 0,5	0,4	0,3 – 0,5
Négative	1,0	-	1,0	-
Statut PCV-2 des porcs à 13 semaines				
Positifs	-	-	1,3	1,0 – 1,6
Négatifs	-	-	1,0	-
Statut parvovirus des mères en gestation				
Titre ≥ 10240	1,9	1,4 – 2,7	2,5	1,7 – 3,7
Titre <10240	1,0	-	1,0	-
Absès au point d'injection (encolure des mères)				
Absence	1,0	-	1,0	-
Présence	2,9	2,1 – 3,9	2,9	1,7 – 5,1
Porcelet issu de truie ayant reçu une injection d'ocytocine				
Non	1,0	-	-	-
Oui	0,6	0,4 – 0,8	-	-

^aAnalyse 1 : les individus malades puis convalescents sont inclus dans le groupe «individus ayant réalisé l'événement : clinique MAP».

^bAnalyse 2 : seuls les individus malades jusqu'à la fin du suivi sont inclus dans le groupe des individus ayant réalisé l'événement.

tion d'ocytocine pour faciliter la mise bas diminue le risque de survenue de la MAP chez la descendance (HR = 0,6).

3. DISCUSSION

Le suivi longitudinal à l'échelon individuel (le porc) a certainement augmenté la précision des observations et l'aptitude à déterminer la séquence des événements. Ainsi, l'exposition à un facteur de risque potentiel et ses conséquences en matière d'expression clinique de la MAP peut-elle être mieux appréhendée. L'étude a été organisée de manière à avoir le maximum de chances de mettre en évidence un effet de la génétique Piétrain s'il existe (50 % des porcs suivis sont issus de cette génétique). Le nombre de porcs suivis permet de mettre en évidence une différence minimale de 5 points entre le groupe non exposé et le groupe exposé (i.e. morbidité de 10 % chez les issus de race X et de 5 % ou moins chez les issus Piétrain) (CASAGRANDE et al., 1978). Dans cette étude, la morbidité observée est respectivement chez les issues X et Piétrain de 17,3 % et 16,3 %. Les taux de morbidité observés sont donc suffisamment élevés pour pouvoir conclure avec les effectifs inclus dans cette étude. De plus, la sélection par tirage au sort des animaux suivis individuellement garantit leur représentativité au sein de chaque bande.

Le niveau d'expression de la maladie de l'amaigrissement du porcelet s'est révélé être très différent selon les élevages. En l'occurrence, il est probable que les caractéristiques des animaux à l'intérieur de chaque élevage soient relativement corrélées et que l'absence de prise en compte de cet effet «élevage» ne conduise à des erreurs d'interprétation, l'effet de telle ou telle variable explicative pouvant être différent selon les élevages. L'analyse que nous avons conduite gère cet effet élevage au travers de l'estimation robuste de la matrice de covariance (LIN et WEI, 1989). L'effet bande n'a pas été pris en compte dans la mesure où au sein d'un élevage le

taux de survie des animaux ne variait pas ou peu selon la bande suivie.

Aucune influence significative du type génétique paternel n'a pu être mise en évidence dans cette étude. Ce résultat n'est pas en accord avec certaines observations rapportées par les vétérinaires spécialisés en production porcine. Cependant, ces observations sont souvent basées sur une comparaison entre la situation avant la mise en place de la génétique Piétrain et la situation après plusieurs mois. L'environnement ainsi que le statut immunitaire du troupeau de reproducteurs ont probablement pu significativement changer au cours de la période transitoire. De plus il n'est pas rare qu'à la faveur de ce changement de génétique, certaines modifications au regard des facteurs de risque de la MAP préalablement mis en évidence (ROSE et al., 2003) surviennent consécutivement (passage de la pratique du prélèvement à la ferme à l'achat intégral de semence pour se fournir en doses Piétrain par exemple). L'absence de différence concernant la cinétique de séroconversion au regard du PCV-2 selon que les animaux sont issus de la génétique Piétrain ou X est aussi un résultat concordant avec les observations cliniques. La relation entre l'infection active précoce par le virus et la survenue de la clinique MAP est en effet clairement établie (SEGALES et DOMINGO, 2002 ; ROSE et al., 2003).

Les facteurs significativement associés à l'expression clinique de la MAP sont à mettre en relation avec la date de séroconversion au regard du circovirus de type 2 (fortement associé au statut immunitaire des mères à la mise bas au regard de ce même virus). Bien que la séroprévalence PCV-2 chez les truies soit extrêmement importante (95 %), une faible partie d'entre elles peut être responsable du syndrome chez la descendance en raison d'un manque d'immunité maternelle. Une observation intéressante est la relation mise en évidence avec le parvovirus porcin. Ce virus est probablement

capable de participer à la pathogénie de la maladie, favorisant la réplication du virus *in utero*, au cours de la gestation. Ce résultat apporte un élément supplémentaire quant à la participation du parvovirus porcin à la pathogénie de la MAP. Les travaux réalisés jusqu'ici ont en effet principalement porté sur des co-infections chez le porcelet nouveau-né ou le porc en croissance (ALLAN et al., 1999 ; ELLIS et al., 2000 ; KRAKOWKA et al., 2000). Il est en fait probable que ces travaux expérimentaux puissent trouver également une application dans le cadre de phénomènes survenant beaucoup plus tôt, au cours de la gestation. Cette observation est à mettre en relation avec l'effet portée très net ainsi qu'avec l'observation des abcès au niveau de l'encolure des mères

probablement consécutifs à des injections faites dans de mauvaises conditions. Dans ce cas, la qualité de la prise vaccinale au regard du parvovirus porcin est une question centrale dans ce syndrome où les faits semblent être joués très tôt, sans doute dès la gestation.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les éleveurs pour leur précieuse collaboration, les organisations de production pour leur aide ainsi que le MAAPAR, le Conseil Régional de Bretagne, le Comité Régional Porcin de Bretagne et celui des Pays de Loire et l'union Européenne pour leurs soutiens financiers.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALLAN G., MEEHAN B., TODD D., KENNEDY S., MC NEILLY F., ELLIS J., CLARK E. G., HARDING J. C., ESPUNA E., BOTNER A., CHARREYRE C., 1998. Vet. Rec., 142, 467-468.
- ALLAN G. M., KENNEDY S., MCNEILLY F., FOSTER J. C., ELLIS J., KRAKOWKA S., MEEHAN B., ADAIR B. M., 1999. J. Comp. Pathol., 121, 1-11.
- BLANCHARD P., MAHÉ D., CARIOLET R., TRUONG C., LE DIMNA M., ARNAULD C., ROSE N., EVENO E., ALBINA E., MADEC F., JESTIN A., 2003. Vet. Microbiol., 94, 183-194.
- CALSAMIGLIA M., SEGALÉS J., QUINTANA J., ROSELL C., DOMINGO M., 2002. Journal of Clinical Microbiology, 40, 1848-1850.
- CASAGRANDE J., PIKE M., SMITH P., 1978. Biometrics, 34, 483-486.
- ELLIS J., HASSARD L., CLARK E. G., HARDING J. C., ALLAN G., WILSON P., STROKAPPE J., MARTIN K., MC NEILLY F., MEEHAN B., TODD D., HAINES D., 1998. Can. Vet. J., 39, 44-51.
- ELLIS J. A., BRATANICH A., CLARK E. G., ALLAN G., MEEHAN B., HAINES D. M., HARDING J., WEST K. H., KRAKOWKA S., KONOBY C., HASSARD L., MARTIN K., MCNEILLY F., 2000. J. Vet. Diag. Invest., 12, 21-27.
- KRAKOWKA S., ELLIS J. A., MEEHAN B., KENNEDY S., MCNEILLY F., ALLAN G., 2000. Vet. Pathol., 37, 254-263.
- LIN D. Y. et WEI L. J., 1989. Journal of the American Statistical Association, 84, 1074-1078.
- PALLARÉS F. J., HALBUR P. G., OPRIESSNIG T., SORDEN S. D., VILLAR D., JANKE B. H., YAEGER M. J., LARSON D. J., SCHWARTZ K. J., YOON K. J., HOFFMAN L. J., 2002. Journal of Veterinary Diagnosis Investigation, 14, 515-519.
- ROSE N., LE DIGUERHER G., EVENO E., JOLLY J. P., LAROUR G., L'HOSTIS A., BLANCHARD P., OGER A., LE DIMNA M., JESTIN A., MADEC F., 2003. Journées de la Recherche Porcine, 35, 383-392.
- SAS INSTITUTE INC., 2000. SAS/STAT User's Guide, Version 8, SAS Institute, Cary, NC.
- SCHOENFELD D., 1982. Biometrika, 69, 239-241.
- SEGALÉS J. et DOMINGO M., 2002. Veterinary Quarterly, 24, 109-124.