

Université de Montréal

**Épidémiologie du syndrome reproducteur et respiratoire porcin
dans deux régions de densités porcines différentes au Québec**

par
Marie-Ève Lambert

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

Thèse présentée à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de
philosophiae doctor (Ph.D.)
en sciences vétérinaires
option épidémiologie

Juin 2011
© Marie-Ève Lambert, 2011

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Cette thèse intitulée

Épidémiologie du syndrome reproducteur et respiratoire porcin
dans deux régions de densités porcines différentes au Québec

présentée par

Marie-Ève Lambert

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Dr André Ravel
président-rapporteur

Dre Sylvie D'Allaire
directrice de recherche

Dr Zvonimir Poljak
codirecteur

Dre Denise Bélanger
membre du jury

Dr François Madec
examineur externe

Dr Jean-Pierre Vaillancourt
représentant du doyen

Résumé

Le virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SRRP) est actuellement l'une des principales menaces pour la santé des troupeaux porcins. Les multiples voies de transmission complexifient l'épidémiologie de l'infection et en font une maladie particulièrement difficile à contrôler. L'objectif général de ce projet de recherche était de déterminer les facteurs associés au statut SRRP des sites de production afin de mieux comprendre l'épidémiologie de cette maladie au sein de deux régions du Québec ayant des densités porcines différentes.

Les stratégies d'introduction des cochettes de remplacement ont d'abord été examinées. Des lacunes importantes ont été identifiées représentant un risque potentiel pour l'introduction du virus ou pour la recirculation d'une souche endémique au sein d'un troupeau reproducteur. Ainsi, appliquée à titre de stratégie de contrôle, l'acclimatation s'est révélée particulièrement problématique. Les principes de base étaient peu respectés, pouvant donc avoir un impact négatif considérable sur la circulation virale au sein du troupeau et potentiellement sur le voisinage immédiat.

La fréquence de plusieurs mesures de biosécurité externe a ensuite été évaluée, permettant d'identifier certains problèmes dont ceux touchant principalement les mesures d'hygiène relatives au protocole d'entrée. Des différences de fréquence entre les régions et les types de production ont également été notées, ce qui peut orienter les interventions de rehaussement. Une classification multivariée a permis de grouper les sites en différents patrons de biosécurité pour constituer par le fait même un index de biosécurité. Cette étape a permis d'évaluer l'association entre certaines caractéristiques de l'élevage et le niveau de biosécurité indiqué par l'index. La distribution géographique des patrons au sein des deux régions, couplée à la détection d'agrégats spatiaux de sites ayant un patron similaire, a également permis de cibler davantage les interventions en fonction de la localisation des sites.

Suite à l'investigation du statut SRRP des sites, une prévalence apparente très élevée a été obtenue pour les deux régions, complexifiant le contrôle de la maladie. L'étude de facteurs de risque dans la région de densité modérée a mis en évidence quatre facteurs associés au statut SRRP positif des sites, soit un inventaire important, la proximité du site porcin immédiat,

l'absence de douche ainsi que le libre accès au site par l'équarrisseur. Une action préventive intégrant des mesures de biosécurité spécifiques peut donc être entreprise directement à la ferme au regard des deux derniers facteurs. Le fait d'utiliser un index de biosécurité plutôt que des mesures de biosécurité spécifiques a également été évalué. Les résultats ne supportent pas l'index global dans l'évaluation de l'association entre la biosécurité et le statut SRRP des sites de production.

Enfin, la corrélation entre les distances génétique, euclidienne et temporelle des souches de SRRP, considérant également l'appartenance au même ou à des propriétaires différents, a été évaluée au sein de la région de haute densité. Une corrélation positive entre la distance génétique et euclidienne observée jusqu'à 5 km a souligné l'importance de la propagation régionale impliquant les aérosols, les insectes, d'autres espèces animales ou les objets inanimés. De plus, les souches génétiquement similaires appartenaient davantage à des sites ayant le même propriétaire, ce qui sous-tend des mécanismes de transmission impliquant une source commune d'animaux, d'employés, d'équipement, voire de véhicules.

Mots-clés : Syndrome reproducteur et respiratoire porcin, SRRP, épidémiologie, facteurs de risque, biosécurité, acclimatation, cochettes, séquences ORF5, spatial, Québec.

Summary

The economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) on swine industry compelled us to improve our knowledge on the epidemiology of the disease in a perspective of prevention. On-farm and regional management of the disease is complex due to the numerous pathways of transmission of the virus. The main objective of this project was to determine factors associated with PRRS status of production sites in two areas of different swine density in Quebec to improve our knowledge on the epidemiology of PRRS.

Gilt replacement strategies were first investigated and practices potentially at risk for PRRSV introduction or recirculation into the sow herd were identified. Acclimatization, which is reported to be an effective strategy to control PRRSV within a herd, was the most common but was the worst applied strategy in the participating herds. Basic principles were not respected which could enhance PRRSV circulation into the sow herd and potentially in the neighbourhood.

The frequency of different biosecurity practices was also examined and led to the identification of some shortcomings, mainly related to the entrance protocol for people; these should be addressed at the farm level before implementing any PRRS regional control. Differences of frequency were observed between regions and production types, thus using this information could help targeting future intervention of biosecurity enhancement. A biosecurity index was developed by grouping sites in different biosecurity patterns using a multivariable technique of classification. This allowed the identification of associations between biosecurity index and characteristic of sites. The geographical distribution of biosecurity patterns among each region combined with the detection of cluster of sites having similar pattern would help to target intervention based on site location.

PRRS status of sites was determined and a high apparent prevalences of infected sites were obtained in both regions which will complicate PRRS management. In the moderate density area, four variables were associated with PRRS positive status: high inventory, proximity to the closest pig site, absence of shower and free access to the site by rendering trucks. Whereas the first two factors are non modifiable characteristics of site, the other ones can be directly

managed on the site by biosecurity. The impact of using a biosecurity index instead of specific biosecurity variables was also evaluated. Results do not support the use of a global index to assess association between biosecurity and PRRS status.

Finally, the correlation among genetic, Euclidean and temporal distances and ownership of PRRSV strains was assessed in the high density area. Positive correlation between genetic distance and ownership suggests either common sources of animals or semen, employees, technical services or vehicles. A positive correlation was also obtained between genetic and Euclidean distances up to 5 km, suggesting the importance of mechanisms involved in area spread such as aerosols, insects, others animal species or fomites.

Keywords: Porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS, epidemiology, risk factors, biosecurity, acclimatization, gilts, ORF5 sequences, spatial, Québec.

Table des matières

RÉSUMÉ	III
SUMMARY	V
TABLE DES MATIÈRES	VII
LISTE DES TABLEAUX	XI
LISTE DES FIGURES	XIII
SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XIV
REMERCIEMENTS	XVII
INTRODUCTION	1
OBJECTIFS	3
RECENSION DES ÉCRITS	4
IMPORTANCE DE LA CONDITION	4
Historique	4
Prévalence	5
Impact économique	7
ÉPIDÉMIOLOGIE DE L'INFECTION	8
Agent étiologique	8
Pathogénie	10
Voies d'infection	10
Oro-nasale	11
Intra-vaginale ou utérine	12
Transplacentaire	12
Cellules cibles et distribution tissulaire	13
Persistance	14
Fluides contaminés	14
Sang ou sérum	15
Sécrétions nasales	15
Salive	16
Semence	16
Urine	16
Fèces	16
Sécrétions mammaires	17
Signes cliniques	17
Animaux reproducteurs	18
Phase épidémique	18
Phase intermédiaire	18
Phase chronique	19

Porcs en croissance.....	19
Lésions	20
Macroscopiques.....	20
Microscopiques	21
Réponse immunitaire	22
Immunité innée	22
Immunité humorale	22
Immunité cellulaire	23
Défis homologue et hétérologue.....	24
Procédures diagnostiques	24
Détection de l'antigène	24
Isolement viral et techniques d'immunohistochimie.....	24
Réaction de polymérisation en chaîne (RT-PCR).....	25
Séquençage.....	25
Patrons RFLP.....	26
Détection des anticorps	26
Sources de virus.....	27
Réservoirs	27
Porc domestique	27
Porc sauvage	28
Véhicules	29
Survie du virus.....	29
Véhicules vivants	30
Insectes	30
Oiseaux.....	32
Rongeurs et autres mammifères (non porcins)	32
Véhicules inanimés	33
Humains	33
Bottes, survêtements et autre matériel.....	34
Camions.....	35
Aérosols.....	36
Aiguilles.....	38
Viande de porc.....	38
Eau de boisson.....	39
Facteurs de risque pour la transmission	39
Introduction de porcs	40
Introduction de semence.....	41
Contact avec véhicules inanimés	42
Aérosols.....	43
Taille de l'inventaire porcin.....	44
Caractéristiques de voisinage	45
Proximité de la ferme voisine.....	45
Densité régionale	46
Saison	47
PRÉVENTION.....	48
Gestion des animaux et de la semence	48
Contrôle du statut et de la source	48
Quarantaine.....	49
Gestion des véhicules inanimés	50
Limiter l'accès.....	50
Protocole d'entrée du personnel et visiteurs.....	50
Période de retrait.....	51
Pédiluve	51
Changement de bottes et de salopettes et lavage de mains.....	51

Désinfection du matériel	52
Véhicules de transport	53
Gestion des aérosols	54
Gestion des insectes, rongeurs et oiseaux	54
CONTRÔLE	55
Conduite d'élevage	56
Dépeuplement partiel	57
Vaccination commerciale	57
Acclimatation	59
ÉLIMINATION	61
Dépeuplement et repeuplement	61
Test et réforme	61
Fermeture du troupeau	62
CONTRÔLE ET ÉLIMINATION RÉGIONAL	63
EXPOSÉ ET ANALYSES DES RÉSULTATS	65

CHAPITRE 1.

INVESTIGATION OF GILT REPLACEMENT STRATEGIES USED IN TWO SWINE PRODUCTION AREAS IN QUEBEC IN REGARD TO PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS	66
Summary	67
Introduction	68
Materials and methods	69
Results	73
Discussion	75
Implications	79
Acknowledgments	79
References	81
Tables	85
Figures	90

CHAPITRE 2.

EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATIONS IN REGARD TO PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME (PRRS) CONTROL IN QUEBEC, CANADA	
PART 1: DESCRIPTIVE STUDY ON BIOSECURITY PRACTICES AND THEIR GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION IN A HIGH AND A MODERATE DENSITY OF SWINE PRODUCTION AREA	92
Abstract	93
1. Introduction	94
2. Materials and methods	95
3. Results	98
4. Discussion	101
5. Conclusion	105
Acknowledgments	106
References	107
Tables	112
Figures	118

CHAPITRE 3.

EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATIONS IN REGARD TO PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME (PRRS) CONTROL IN QUEBEC, CANADA	
PART 2: PREVALENCE AND RISK FACTORS FOR PRRS VIRUS INFECTION OF BREEDING SITES IN A MODERATE DENSITY AREA OF SWINE PRODUCTION	122
Abstract	123

1. Introduction	124
2. Materials and methods.....	125
3. Results	129
4. Discussion.....	131
5. Conclusion.....	138
Acknowledgments	138
References	139
Tables.....	145
CHAPITRE 4.	
CORRELATION AMONG GENETIC, EUCLIDEAN AND TEMPORAL DISTANCES AND OWNERSHIP OF PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS STRAINS IN A HIGH DENSITY OF SWINE PRODUCTION AREA IN QUEBEC, CANADA.....	151
Abstract	152
Background.....	154
Methods.....	155
Results.....	157
Discussion.....	158
Conclusions	163
Acknowledgments	163
References.....	164
Tables.....	170
Figures	174
DISCUSSION GÉNÉRALE	176
Discussion sur les principaux résultats	177
Les stratégies d'introduction des cochettes de remplacement.....	177
Les mesures de biosécurité.....	180
Prévalence et facteurs de risque pour l'infection par le virus SRRP.....	183
Corrélations entre les distances génétique, euclidienne et temporelle des souches de SRRP.....	186
Limites de l'étude.....	189
Devis d'étude.....	189
Sélection des sites et des régions.....	190
Questionnaire	191
Identification du statut SRRP.....	193
Analyses statistiques	195
Directions futures.....	198
CONCLUSION	202
SOURCES DOCUMENTAIRES	203
APPENDICES	XVIII
Questionnaires	XVIII
Partie 1-Caractéristiques générales du site et mesures de biosécurité.....	XVIII
Partie 2-Gestion des animaux de remplacement.....	XXVI

Liste des tableaux

Table I. Descriptive statistics on characteristics of breeding sites according to the type of purchase of gilts (120 sites; May 2005-August 2008).....	85
Table II. Descriptive statistics on gilt introduction strategies used in PRRSV positive (n=102) and negative (n=18) breeding sites according to the type of purchase of gilts (120 sites; May 2005-August 2008)	86
Table III. Descriptive statistics on parameters of acclimatization process of gilts using contact with live animals in PRRSV positive sites (41 sites; May 2005-August 2008)	87
Table IV. Descriptive statistics on characteristics of breeding sites and gilt management in a moderate (MD) and high (HD) density area, Quebec, Canada (120 sites; May 2005-August 2008).....	88
Table V. Descriptive statistics for herd and neighbourhood characteristics of sites in a moderate (MD) and high (HD) density area according to production type in Quebec, Canada (125 breeding and 120 growing sites; May 2005-August 2008).....	112
Table VI. Descriptive statistics for specific biosecurity practices (%) reported according to region and production type (245 sites; May 2005-August 2008).....	113
Table VII. Descriptive statistics for herd and neighbourhood characteristics (expressed as % of total number of sites in each pattern) according to biosecurity patterns obtained through the classification of breeding (A and B; n=125) and growing (C and D; n=120) sites (May 2005-August 2008)	115
Table VIII. Descriptive statistics for specific biosecurity practices (expressed as % of total number of sites in each pattern) according to biosecurity patterns obtained through the classification of breeding (A and B; n=125) and growing (C and D; n=120) sites (May 2005-August 2008).....	116
Table IX. Descriptive statistics for herd and neighbourhood characteristics for breeding sites in Estrie, Quebec, Canada (52 sites; belonging to 45 independent producers, 1 integrated swine company; September 2006-August 2008).....	145
Table X. Descriptive statistics for predictors tested for association with PRRS positive status for breeding sites in Estrie, Quebec, Canada (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)	146

Table XI. Predictors associated ($P \leq 0.15$) with PRRS positive status using univariable logistic regression with robust SE on ownership (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)	148
Table XII. Predictors associated ($P \leq 0.05$) with PRRS positive status using two different multivariable logistic regression models with robust SE on ownership, model 1 and 2 (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)	149
Table XIII. Population attributable fraction (AF) obtained from model 1 (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)	150
Table XIV. Descriptive statistics for herd and neighbourhood characteristics of sites where PRRSV wild-type ORF5 sequence was identified in a high density (HD) area according to production type, Quebec, Canada (122 sites, February 2005-June 2007)	170
Table XV. Proportion (%) of pairwise combinations $\geq 98\%$ homology according to Euclidean distance between sites and ownership (122 ORF5 sequences, 7381 different pairwise combinations; February 2005 and June 2007)	171
Table XVI. Bivariate correlations between genetic, Euclidean and temporal distances and ownership computed with Mantel test procedure (122 ORF5 sequences, 7381 different pairwise combinations; February 2005 and June 2007)	172
Table XVII. Bivariate correlations between genetic, Euclidean and temporal binary distances and ownership computed with Partial Mantel test procedure (7381 different pairwise combinations of 122 ORF5 sequences; February 2005 and June 2007)	173

Liste des figures

Figure 1. Geographical distribution of sites in the moderate density (MD) area according to their PRRSV status and the use of voluntary gilt exposure to wild-type or vaccine PRRSV strain in PRRSV positive sites.	90
Figure 2. Geographical distribution of sites in the high density (HD) area according to their PRRSV status and the use of voluntary gilt exposure to wild-type or vaccine PRRSV strain in PRRSV positive sites.....	91
Figure 3. Geographical distribution of breeding sites in moderate density (MD) area according to biosecurity patterns (A vs. B)	118
Figure 4. Geographical distribution of breeding sites in high density (HD) area according to biosecurity patterns (A vs. B).....	119
Figure 5. Geographical distribution of growing sites in high density (HD) area according to biosecurity patterns (C vs. D)	120
Figure 6. Geographical distribution of breeding and growing sites in high density (HD) area according to biosecurity patterns (A or C vs. B or D)	121
Figure 7. Spatial correlogram showing Mantel r statistic computed on binary matrices of genetic ($\geq 98\%$, $< 98\%$ homology) and Euclidean distances for different thresholds (km). Results were obtained from 7381 different pairwise combinations of 122 ORF5 sequences gathered between February 2005 and June 2007. Dark dots indicated significant correlation ($P \leq 0.004$) after 9999 permutations of matrices.	174
Figure 8. Temporal correlogram showing Mantel r statistic computed on binary matrices of genetic ($\geq 98\%$, $< 98\%$ homology) and temporal distances for different temporal thresholds (month). Results were obtained from 7381 different pairwise combinations of 122 ORF5 sequences gathered between February 2005 and June 2007. Dark dots indicated significant correlation ($P \leq 0.004$) after 9999 permutations of matrices.	175

Sigles et abréviations

AF:	Population attribuable fraction
AIAO:	All-in all-out
ARN:	Acide ribonucléique
CDAQ:	Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec
CDPQ:	Centre de développement du porc du Québec
CI:	Confidence interval
CIPQ:	Centre d'insémination porcine du Québec
j:	Jour
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbent assay (Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée)
FAO:	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)
FPPQ:	Fédération des producteurs de porcs du Québec
FQRNT:	Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies
GMQ:	Gain moyen quotidien
HPU:	Unités productrices de chaleur
IFN:	Interféron
IgG:	Immunoglobuline de type G
IgM:	Immunoglobuline de type M
IL:	Interleukine
IV:	Isolement viral
kb:	Kilobase
NAHMS:	National Animal Health Monitoring System
OR:	Odds ratio
ORF:	Open reading frame (Cadre ouvert de lecture)
PADRAP:	Production Animal Disease Risk Assessment Program (Programme d'évaluation des risques de maladies en production animale)
PAM:	Pulmonary alveolar macrophages (Macrophages pulmonaires alvéolaires)
PCR:	Polymerase chain reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)
PI:	Post-infection, post-inoculation
PRRS:	Porcine reproductive and respiratory syndrome
PRRSv:	Porcine reproductive and respiratory syndrome virus
qRT-PCR:	Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (Réaction de polymérisation en chaîne quantitative après transcription inverse)
RC:	Rapport des cotes
RFLP:	Restriction fragment length polymorphism (Polymorphisme de longueur des fragments de restriction)
RNA:	Ribonucleic acid
RT-PCR:	Reverse transcription polymerase chain reaction (Réaction de polymérisation en chaîne après transcription inverse)
SE:	Standard error
SPF:	Specific pathogen free
SRRP:	Syndrome reproducteur et respiratoire porcin

TADD: Thermo-assisted drying and decontamination
(Décontamination et séchage thermo-assisté)

TPTV: Tout-plein tout-vide

À toi. Tout petit être qui m'a donné la force de terminer.
« Une maman Ph.D., ça fait du meilleur lait !!! »

À mon père. À ma mère. À Hugo.
Pour leur présence, soutien et amour inconditionnel.

Remerciements

Tout d'abord, j'aimerais remercier Sylvie de m'avoir proposé ce projet et d'avoir été présente à toutes les étapes, dans les moments les plus joyeux comme les plus difficiles. Une présence constante est essentielle à l'obtention d'un Ph.D. et je dois t'en remercier. Merci pour le temps que tu y as consacré, pour ta patience, ton souci du détail et ne pas avoir douté que je pouvais y arriver.

Many thanks to Zvonimir. Coming onboard at the halfway point, he seamlessly integrated into the team and took on an important role in this project. His advice about structure and methodology and his drive and encouragement was invaluable. Despite the long distance and his busy schedule, he was always available and generous with his time.

Merci à Martine. Ma «supportaire», ma deuxième mère, qui a su avoir une écoute attentive et constante dans les moments où j'en avais le plus besoin. La passion que tu voues à la pratique porcine te fait honneur et est carrément contagieuse. Merci pour les discussions animées et formatrices ainsi que pour ton dynamisme qui est source de motivation.

Merci à Julie. Mon professeur, ma collègue et surtout mon amie. Tu as été déterminante dans la réalisation de ce travail en raison non seulement de tes multiples conseils et de ton encadrement, mais également pour tes nombreux encouragements qui m'ont aidée à me dépasser. Oui, j'ai appris.

Merci à ma famille et mes amis. Vous m'avez toujours encouragée dans quoi que ce soit que j'entreprene, sans nécessairement savoir que la réalisation pouvait prendre des années. Vous avez toujours été présents, attentifs et compréhensifs. Un merci tout spécial à mon père et à ma mère. Vous avez tellement fait pour moi que je ne trouve tout simplement pas les mots... Grâce à vous, aucun obstacle n'est infranchissable...

Merci à Hugo. Je n'y serais jamais arrivée sans toi. Tu es mon équilibre, ma santé, ma vie. La vie commence maintenant.

Introduction

En réponse à l'organisation de la filière porcine, l'industrie québécoise a connu une période de croissance rapide de 1976 à 1980, pour se stabiliser entre 1980 et 1993 (4.5 millions) et reprendre sa croissance jusqu'à 7.8 millions de porcs abattus en 2008, se situant au deuxième rang de la production canadienne (Charron *et al.*, 2003). La production porcine québécoise est donc une part importante de l'industrie porcine canadienne générant d'importantes retombées économiques locales et internationales via le développement du marché d'exportation.

À la fin du 20^e siècle, l'intensification et le confinement de la production porcine ont été mis en place en Europe et en Amérique du Nord. Cela a maximisé le potentiel d'interaction entre les porcs et donc la transmission horizontale directe entre des hôtes infectés et susceptibles, favorisant ainsi l'émergence de plusieurs maladies porcines, en particulier les maladies respiratoires (Murtaugh *et al.*, 2010). Au Québec, les entreprises de grande taille ont aussi été favorisées et la production s'est concentrée géographiquement surtout dans quelques régions administratives. La concentration de la production et donc l'augmentation de la densité animale et de fermes porcines dans les régions productrices de maïs ont favorisé la mise en place de conditions propices à la transmission de plusieurs maladies porcines.

Outre l'intensification, la production porcine québécoise arbore d'autres caractéristiques également susceptibles d'accentuer la transmission des agents infectieux telle qu'une structure pyramidale au sein de laquelle interagissent différents types de production. Parallèlement, l'avènement du sevrage précoce a mené à la gestion multi site de la production, accentuant le potentiel de dissémination géographique des agents pathogènes via l'accentuation des besoins en transport (D'Allaire, 2000; Murtaugh *et al.*, 2010). L'insémination artificielle a également gagné en popularité, étant pratiquée dans plus de 85% des élevages québécois et favorisant la dispersion de certains agents pathogènes sur de larges territoires (Broes, 2002). Un grand nombre d'éléments ont donc pu maximiser la transmission du virus responsable du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SRRP).

Le SRRP est actuellement l'une des principales menaces sanitaires pour l'industrie porcine mondiale. Bien que peu de données soient disponibles sur la prévalence et l'impact économique de la maladie au Québec, le virus est présent de manière endémique et a des répercussions économiques désastreuses. L'importante hétérogénéité des souches virales conjuguée au manque de protection croisée complète entre les différentes souches contribuent à rendre la maladie difficile à contrôler. En effet, les deux vaccins commerciaux actuellement disponibles en Amérique du Nord n'étant basés chacun que sur une seule souche virale, ils ne peuvent garantir une protection complète lors de l'introduction d'une souche additionnelle dans un troupeau. La gestion de cette maladie devrait donc d'abord être opérée dans le cadre d'une approche préventive. Or, la transmission du virus SRRP entre les sites de production situés dans les régions de densité élevée ou modérée représente un défi de taille à contrôler. La complexité émerge à la fois du potentiel infectieux du virus et des multiples moyens de transmission directs et indirects. Les facteurs de risque pour l'introduction du virus sur un site de production sont donc, potentiellement diversifiés et il est primordial de les identifier et de quantifier leur importance relative. Une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la maladie est nécessaire à la mise en place d'interventions ciblées pour le contrôle au niveau de la ferme, mais également dans une perspective de contrôle régional.

Objectifs

L'objectif général de ce projet de recherche est de déterminer les facteurs associés au statut SRRP des sites de production afin de mieux comprendre l'épidémiologie de cette maladie au sein de deux régions du Québec ayant des densités porcines différentes.

Les objectifs spécifiques sont les suivants:

1. Décrire les différentes stratégies d'introduction des cochettes de remplacement utilisées afin d'identifier des points critiques qui favoriseraient l'introduction du virus ou la recirculation d'une souche existante au sein de l'élevage.
2. Décrire certaines mesures de biosécurité mises en place sur les sites selon la région et le type de production, grouper les sites en différents patrons de biosécurité et déterminer leur distribution géographique dans une perspective de contrôle régional de la maladie.
3. Obtenir un estimé de la prévalence de troupeaux infectés dans chaque région et évaluer la relation entre les mesures de biosécurité, certaines caractéristiques démographiques et environnementales et le statut SRRP des sites de production.
4. Évaluer la corrélation entre les distances génétique, euclidienne et temporelle des souches de SRRP et l'appartenance à un même propriétaire en vue de mieux comprendre les voies de transmission entre les sites de production.

Recension des écrits

La recension des écrits présentée ci-dessous a d'abord pour objectif de mettre en évidence l'importance du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SRRP) en discutant de sa répartition géographique, sa prévalence ainsi que son impact économique sur l'industrie porcine. Cette section s'enchaînera par une description sommaire de l'agent étiologique, de la pathogénie, des signes cliniques et lésions associés à la maladie ainsi que la réponse immunitaire de l'hôte et certaines procédures diagnostiques existantes. Une emphase particulière sera dirigée sur les différents réservoirs et véhicules pouvant servir de sources d'infection, ainsi que sur les principaux facteurs de risque mentionnés dans la littérature. Finalement, une brève revue des différentes méthodes de prévention et contrôle sera également effectuée.

Importance de la condition

Historique

Les premiers épisodes cliniques pouvant être associés au virus SRRP ont été rapportés en 1987 aux États-Unis, plus précisément en Caroline du Nord (Keffaber, 1989; Hill, 1990; Benfield *et al.*, 1992a). On surnommait alors ce syndrome la maladie mystérieuse. L'incidence des cas cliniques a rapidement augmenté. Dès 1990, la maladie était rapportée dans 11 états américains et deux provinces canadiennes, soit l'Ontario et le Québec (Hill, 1990). Des analyses sérologiques rétrospectives ont mis en évidence les premiers anticorps en Ontario, au Canada, où 3.9% des sérums prélevés en 1979 dans 51 troupeaux étaient positifs, alors que ceux prélevés en 1978 dans 50 troupeaux étaient négatifs (Carman *et al.*, 1995). Il a été suggéré que le virus était absent de la population porcine domestique américaine avant 1980, les sérums prélevés dans l'état de l'Iowa (n=1425 sérums, 118 troupeaux) et analysés étant négatifs (Hill *et al.*, 1992). Par la suite, des cas séropositifs ont été répertoriés en Iowa en 1985 (Owen *et al.*, 1992) et au Minnesota en 1986 (Joo *et al.*, 1992). En 1990, la distribution extensive sur le territoire américain a été confirmée au moyen d'échantillons provenant de la première enquête nationale (*National Animal Health Monitoring System-NAHMS*) (Bautista *et al.*, 1993c).

Les premiers épisodes cliniques sur le continent européen ont été remarqués en Allemagne en 1990 (Goyal, 1993; Zimmerman, 2003), soit 2 à 3 ans après son apparition sur le continent nord-américain. Les critères du postulat de Koch ont été remplis en 1991 aux Pays-Bas, suite à l'identification d'un virus ARN, nommé subséquentement Lelystad, faisant référence à la ville où il a été découvert (Wensvoort *et al.*, 1991). Environ au même moment, un virus similaire nommé VR-2332, reconnu maintenant comme prototype des souches nord-américaines, a également été mis en évidence aux États-Unis (Collins *et al.*, 1992). En 1992, on rapportait l'isolement du virus au Canada (Dea *et al.*, 1992) et la même année, le terme de syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SRRP) a été officiellement adopté, du moins pour le continent américain (Terpstra *et al.*, 1991b; Christianson *et al.*, 1993).

Par la suite, l'infection s'est rapidement disséminée au sein des continents américain, européen et asiatique. Ainsi, le syndrome a été rapporté entre les années 1988-1995 dans la plupart des pays producteurs de porcs de l'Europe soit en Belgique, en Angleterre, en France, aux Pays-Bas, en Espagne, au Danemark, en Pologne et en République Tchèque (Wensvoort *et al.*, 1991; White, 1991; Baron *et al.*, 1992; Plana Duran *et al.*, 1992; Botner *et al.*, 1994; Pejsak et Markowska-Daniel, 1996; Valicek *et al.*, 1999; Zimmerman, 2003). On l'a aussi documenté en Asie, tel qu'au Japon, en Taiwan et en République de Corée (Chang *et al.*, 1993; Kweon *et al.*, 1994; Murakami *et al.*, 1994; Hirose *et al.*, 1995). Le continent africain et la Suède ont été infectés plus tardivement, soit en 2004 (World Organisation for Animal Health, 2005; Carlsson *et al.*, 2009). À ce jour, seuls quelques pays seraient exempts de l'infection: Norvège, Finlande, Suisse, Nouvelle-Zélande, Nouvelle-Calédonie, Australie, Argentine, Brésil, Cuba et les Caraïbes (Garner *et al.*, 1996; World Organisation for Animal Health, 1996; Elvander *et al.*, 1997; Garner *et al.*, 1997; Motha *et al.*, 1997; World Organisation for Animal Health, 1997; Canon *et al.*, 1998; Botner, 2003; Perfumo et Sanguinetti, 2003). Même si trouvé positif en 1999-2000, le Chili pourrait bien être le premier pays à avoir réussi à éradiquer le virus de son territoire (Castanon Garbarino, 2010).

Prévalence

De troupeau

Les premières études de séroprévalence américaines estimaient qu'environ 40 à 60% des troupeaux étaient infectés, la prévalence variant entre 0 et 80% selon les états américains investigués (Bautista *et al.*, 1993a; Bautista *et al.*, 1993c; Cho *et al.*, 1993). Ainsi en 1990, suivant

l'échantillonnage de 412 troupeaux aléatoirement sélectionnés au sein de 17 états américains, 36% des troupeaux étaient séropositifs et localisés dans 14 états (Bautista *et al.*, 1993c). En 1992, par l'examen de 2787 sérums soumis aux laboratoires de diagnostic et provenant de 263 fermes localisées dans 13 états américains, une séroprévalence de troupeau de 56% a été obtenue (Cho *et al.*, 1993) alors que 49% des 103 fermes d'Illinois ayant soumis des échantillons étaient infectées (Weigel *et al.*, 2000). En 1995 et 2000, après avoir utilisé 15 ou 30 échantillons par site, la séroprévalence de troupeaux de truies non vaccinés était respectivement de 48% (n=174) et 62% (n=150) (United States Department of Agriculture, 2005).

On croyait également qu'à ses débuts, environ 50% des troupeaux en Europe étaient infectés, la prévalence étant moindre dans certains pays ou régions (Albina, 1997). Ainsi, une enquête épidémiologique réalisée en France en 1993 dans la région du Pays de la Loire obtenait 2% de prévalence suite à l'investigation du tiers des troupeaux de la région (n=733) (Le Potier *et al.*, 1997). Le Danemark, bénéficiant d'une surveillance accrue des troupeaux SPF, documentait une prévalence de 46% (Anon, 2005). D'autres études effectuées aux Pays-Bas, en Grande-Bretagne et en Belgique soutiennent des séroprévalences très élevées touchant la majorité des sites ou alors >75% (Meas, 1997; Nodelijk *et al.*, 1997; Nodelijk *et al.*, 2000; Evans *et al.*, 2008; Lopez-Soria *et al.*, 2010) et même 95% dans l'état de Sonora au Mexique (Batista *et al.*, 2010). Finalement, sur le continent asiatique, la séroprévalence de troupeau est également élevée soit de 69% pour 5 états de la Corée (n=160) entre 1995-1996 (Cheon *et al.*, 1997) et 87% en République de Corée (n=254) (Lu *et al.*, 1999). Certains écrits documentent plus précisément la séroprévalence en fonction des types de production. En 2002 aux États-Unis, elle serait respectivement de 45, 32 et 38% pour les troupeaux reproducteurs, les pouponnières et les engraissements (Neumann *et al.*, 2005) et de 85, 78 et 51% pour les troupeaux de truies, de porcs en croissance et de verrats en Espagne (Lopez-Soria *et al.*, 2010). Peu de données d'incidence sont disponibles. Au Danemark, une incidence annuelle parmi les troupeaux de 4-10% est rapportée (Mousing *et al.*, 1997; Mortensen *et al.*, 2002), résultats compatibles avec ceux provenant d'une analyse de survie américaine, où 8% des 180 troupeaux naisseurs négatifs investigués sont devenus infectés durant la première année (Holtkamp *et al.*, 2010a).

Intra-troupeau

Bien qu'une prévalence relativement faible, soit <30%, ait été rapportée dans un certain nombre de troupeaux (Bautista *et al.*, 1993c; Weigel *et al.*, 2000), la plupart des écrits témoignent plutôt d'une prévalence généralement élevée (Auvigne *et al.*, 1994; Christianson et Joo, 1994; Nodelijk *et al.*, 2000). Trois semaines après l'introduction du virus, on rapporte une prévalence de 75% chez les truies, augmentant jusqu'à 90% dans les 24 semaines post-infection (Auvigne *et al.*, 1994). Similairement, une séroprévalence de 86-95% chez les truies et de 100% chez les cochettes a été obtenue deux mois suivant l'introduction du virus dans un troupeau naïf (Nodelijk *et al.*, 2000). Suite à la détection d'une crise, la séroprévalence des truies et des porcs en croissance oscillait respectivement entre 65-87% et 10-100% (Carlsson *et al.*, 2009), des résultats similaires ayant été obtenus lors d'une enquête sérologique visant 44 troupeaux espagnols localisés dans une zone infectée de manière endémique (Lopez-Soria *et al.*, 2010). Une étude documente l'incidence intra-troupeau marquant le début d'une nouvelle crise sanitaire dans un troupeau naisseur-finiisseur de 115 truies (Nodelijk *et al.*, 2000). Durant un peu plus d'un mois, une incidence d'environ 3 nouveaux cas/j a été observée chez les truies. Les porcelets ont été infectés ultérieurement, 49% de la séroconversion s'étant produite sur une période d'environ deux mois à un rythme de 1.22 cas/j (Nodelijk *et al.*, 2000). Un an après la crise, l'incidence était respectivement de 0.02 et de 0.01 cas/j pour les truies et les porcelets (Nodelijk *et al.*, 2000).

Impact économique

Le virus SRRP cause des pertes financières considérables touchant tous les stades de production. Ainsi, sur les 560 millions de dollars de pertes annuelles estimées aux États-Unis, 12, 36 et 52% seraient occasionnés respectivement par la phase de reproduction, de pouponnière et d'engraissement (Neumann *et al.*, 2005). De façon générale, le manque de connaissance relative à l'incidence et au coût de la maladie dans les troupeaux infectés de manière endémique rend difficile l'évaluation de l'impact financier. Néanmoins, considérant un coût de 323\$ CAN par truie/crise, 350 000 truies en inventaire et 35% des troupeaux infectés annuellement, des pertes annuelles >39 millions ont été estimées pour la filière porcine québécoise (Surprenant, 2010).

En Illinois, le coût moyen associé à une crise de SRRP a été estimé à 302 \$US par femelle reproductrice (Hoefling, 1992). D'autres études américaines mentionnent des coûts légèrement

inférieurs soit 228 \$US/truie (Dee *et al.*, 1997), 236 \$US/truie (Polson *et al.*, 1992) et 255 \$US/truie (Holck et Polson, 2003). Les pertes seraient associées à une diminution du taux de mise bas, de la production de porcelets sevrés et du nombre de porcelets sevrés/truie/année (Neumann *et al.*, 2005). Le coût d'une crise de SRRP pour un élevage de type naisseur-finisser a donc été estimé à 74 \$US/portée (Neumann *et al.*, 2005). Pour la phase de croissance-finition, les coûts oscillent entre 7.5 à 15 \$/porc mis en marché (Dee et Joo, 1993; Dee et Joo, 1994a). Plus spécifiquement, l'impact économique est estimé respectivement à 6 \$/porcelet et à 7 \$/porc en pouponnière et en engraissement (Neumann *et al.*, 2005). Les pertes lors de la période de croissance seraient associées à une augmentation de la mortalité ainsi qu'à une réduction de l'efficacité alimentaire et du gain moyen quotidien (GMQ) (Neumann *et al.*, 2005), mais également aux dépenses liées aux soins de santé vétérinaire et aux traitements des infections secondaires (Pejsak et Markowska-Daniel, 1997).

Épidémiologie de l'infection

Agent étiologique

Le SRRP est causé par un virus de forme sphérique composé d'ARN simple brin positif et non segmenté, protégé par une nucléocapside icosaédrique et une enveloppe lipidique faisant partie de la famille des Arteriviridae, du genre Arterivirus et de l'ordre des Nidovirales (Benfield *et al.*, 1992b; Conzelmann *et al.*, 1993; Cavanagh, 1997). Le virion a un diamètre moyen de 62 nm, variant entre 48-80 nm, alors que la nucléocapside a un diamètre de 25-35 nm (Benfield *et al.*, 1992b). Le génome de 15 kb arbore huit cadres de lecture distincts (ORFs) (Meulenberg *et al.*, 1993). Les ORFs 1a et 1b représentent environ 75% du génome et codent pour des protéines nécessaires à la réplication de l'ARN viral (Meulenberg *et al.*, 1993; Meulenberg *et al.*, 1995; Molenkamp *et al.*, 2000). Les ORFs 2-4 forment les protéines mineures structurantes de l'enveloppe (GP2a, GP2b GP3 et GP4) (Conzelmann *et al.*, 1993; Meulenberg *et al.*, 1995; Morozov *et al.*, 1995; Van Nieuwstadt *et al.*, 1996; Wissink *et al.*, 2005). Les ORFs 5, 6 et 7, forment respectivement les protéines majeures de l'enveloppe (GP5 et M) et de la nucléocapside (N) (Meulenberg *et al.*, 1995; Mardassi *et al.*, 1996).

Les virus ARN sont particulièrement vulnérables aux mutations (Domingo *et al.*, 1996) et les mutations ponctuelles seraient le principal mécanisme évolutif du virus SRRP. Des taux de mutations de 4.03×10^{-5} /site/j ont été observés (Kim *et al.*, 2011 (*in press*)), soit encore plus fréquents que ceux rapportés précédemment (Prieto *et al.*, 2009). La recombinaison pourrait

également expliquer la grande diversité intra-génique et l'évolution du virus (Yuan *et al.*, 1999; van Vugt *et al.*, 2001). Peu d'études phylogénétiques en font actuellement mention. Le phénomène est sans doute peu fréquent; seuls huit recombinants potentiels ont été identifiés sur plus de 8000 séquences recueillies mondialement (Shi *et al.*, 2010).

Les souches du virus SRRP sont regroupées en deux génotypes mondialement reconnus, soit le Nord-américain (Type 2) et l'Européen (Type 1) (Meng *et al.*, 1995a) et diffèrent génétiquement, antigéniquement et cliniquement (Kim et Yoon, 2008; Kimman *et al.*, 2009). Les souches des deux génotypes diffèrent d'environ 40% sur une base de nucléotides, leurs génomes ayant été complètement séquencés (Meng *et al.*, 1995a; Meng *et al.*, 1995b; Allende *et al.*, 1999). De façon générale, le segment ORF5 est le plus variable, avec une hétérogénéité atteignant jusqu'à 45-50% (Mardassi *et al.*, 1995; Meng *et al.*, 1995b; Nielson *et al.*, 1999). L'hypothèse la plus simple concernant l'émergence des deux génotypes serait une seule origine provenant de l'Eurasie suivie par l'isolement géographique entre l'Eurasie et l'Amérique du Nord (importation d'animaux infectés) pour une période indéterminée avant l'apparition du syndrome clinique (Murtaugh *et al.*, 2010). Ils auraient donc évolué indépendamment sur leur continent respectif et développé leur propre diversité suite à la pression de sélection locale, des formes intermédiaires possédant des caractéristiques des deux génotypes n'ayant jamais été retrouvées (Albina, 1997; Nielson *et al.*, 1999; Murtaugh *et al.*, 2010). En 1990 et 1992, on constatait la présence d'anticorps à la souche européenne parmi les troupeaux américains (Bautista *et al.*, 1993a; Bautista *et al.*, 1993c) et depuis, le génotype européen a été identifié sur le territoire américain (Ropp *et al.*, 2004). Sauf exception, les souches canadiennes et québécoises appartiennent au génotype nord-américain (Cai *et al.*, 2002; Larochelle *et al.*, 2003). Ce dernier génotype a également été observé en Asie et a été introduit en Europe suite à l'utilisation de la vaccination commerciale (Murakami *et al.*, 1994; Mortensen *et al.*, 2002; Yoshii *et al.*, 2005).

Au sein de chaque génotype, une hétérogénéité considérable, soit jusqu'à 20% sur une base de nucléotides, peut être observée parmi les souches (Kimman *et al.*, 2009). Parmi les souches du génotype nord-américain, le ORF 5 est le segment le plus variable (Halbur *et al.*, 1995; Meng *et al.*, 1995b; Murtaugh *et al.*, 1995; Goldberg *et al.*, 2000a). À l'échelle régionale, une diversité importante peut être observée. Sur une base de nucléotides, une homologie (ORF5) variant entre 85 et 100% était observée au sein de 55 séquences de l'Illinois et de l'Iowa (Goldberg *et al.*, 2000b), résultat similaire à celui obtenu de l'analyse de 34 séquences mexicaines (Batista *et*

al., 2003b). De plus, sur 250 séquences recueillies au Québec entre 1998-2002, l'homologie variait respectivement entre 84-100% et de 79-100%, sur une base de nucléotides et acides aminés (Larochelle *et al.*, 2003). De la variation génétique était alors observée sur 51% des 603 nucléotides et sur 59% des 200 acides aminés (Larochelle *et al.*, 2003).

Des souches génétiquement différentes, voire de génotypes différents, peuvent coexister dans la même ferme (Dee *et al.*, 2001b; Goldberg *et al.*, 2003; Larochelle *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2011 (*in press*)). Sur les 254 cas typables de SRRP soumis à un laboratoire de l'Ontario, on rapporte 4 cas où 2 patrons RFLP provenaient de tissus de différents porcs, mais soumis au même moment et provenant de la même ferme (Cai *et al.*, 2002). Larochelle *et al.* (2003) mentionnent également que pour 2 troupeaux sur 174 ayant soumis des cas au séquençage, 2 souches différentes ont pu être identifiées d'échantillons prélevés au même moment sur deux porcs différents. Goldberg *et al.* (2003) ont observé que les séquences obtenues de tissus de différents porcs provenant de la même ferme étaient différentes, avec 3.8% de diversité. Néanmoins, une variation mineure entre les souches d'un même troupeau (0.2-0.8%), comparativement à celle des souches provenant de différents troupeaux (0.8-8.6%) a été observée pour le segment ORF5 (Mengeling *et al.*, 1997). Ces résultats corroborent également ceux provenant d'une seconde étude incluant 48 troupeaux de l'Illinois et de l'Iowa (Goldberg *et al.*, 2000a).

Expérimentalement, des souches différentes ont également été isolées du même animal (Chang *et al.*, 2002; Mengeling *et al.*, 2003b). Rowland *et al.* (1999) mentionnent que chez un même individu, différents isolats hétérologues peuvent cohabiter, se faire compétition et subir une certaine sélection naturelle positive ou négative influencée par les anticorps neutralisants ou alors par les autres mécanismes de défense de l'hôte. Goldberg *et al.* (2003) ajoutent que les individus peuvent arborer une grande variabilité de clones. Le virus mute très rapidement à l'intérieur de l'individu suite à une infection naturelle (Rowland *et al.*, 1999; Chang *et al.*, 2002; Goldberg *et al.*, 2003).

Pathogénie

Voies d'infection

Expérimentalement, les voies orale, intra-nasale, intra-musculaire, intra-péritonéale, intra-vaginale, intra-utérine et transplacentaire permettent une infection efficace (Christianson *et al.*, 1993; Magar *et al.*, 1995; Gradil *et al.*, 1996; Yoon *et al.*, 1999). Le virus est considéré très

infectieux, c'est-à-dire que seule une faible dose (≤ 10 particules virales) est nécessaire à l'infection par voie intra-musculaire ou intra-nasale (Yoon *et al.*, 1999). Ces dernières voies ont donc largement été éprouvées dans le cadre d'infections expérimentales. D'autres voies d'infection demeurent particulièrement importantes dans un contexte d'élevage.

Oro-nasale

La voie oro-nasale suivant un contact direct groin à groin est sans doute la voie la plus sollicitée (Albina, 1997). Expérimentalement, la transmission par contact direct est survenue entre les porcs inoculés et susceptibles placés au sein d'un même parc pour des périodes de temps variables avec ou sans présence de coinfection (Yoon *et al.*, 1993; Benfield *et al.*, 2000; Brockmeier et Lager, 2002; Trincado *et al.*, 2004a; Fano *et al.*, 2005). Le potentiel de transmission diminuerait avec le temps écoulé entre l'inoculation des porcs et la mise en contact avec les porcs susceptibles. Ainsi, alors que toutes les sentinelles se contaminaient suite à une mise en contact 3 ou 10 j PI, seule la moitié l'était 24 j PI (Yoon *et al.*, 1993). Des porcelets infectés de façon persistante ont également transmis l'infection par un contact direct d'une semaine et ce, 64, 84, 98 et 112 j après leur naissance (Benfield *et al.*, 2000). Un contact groin à groin via une barrière a également résulté en la transmission du virus par des truies infectées de manière persistante; le virus ayant été détecté dans le sérum des truies susceptibles au jour 49, 56 et 86 après le contact initial (Bierk *et al.*, 2001b). Dans la majorité des études expérimentales évaluant la transmission par contact direct au sein d'un parc, il est toutefois difficile d'établir précisément la voie d'excrétion ayant servi de source d'infection (Yoon *et al.*, 1993; Wills *et al.*, 1997a).

La voie orale a été examinée plus précisément dans un contexte d'ingestion de viande de porc contaminée. Bien qu'une équipe de recherche n'ait pu la mettre en évidence (Molina *et al.*, 2009), la transmission par voie orale suite à l'ingestion de viande de porc contaminée (1×10^7 TCID₅₀) a été documentée expérimentalement (Magar *et al.* 1995b) et corroborée par d'autres (van der Linden *et al.*, 2003; Magar et Larochelle, 2004). Le virus entrerait dans l'organisme suite à un contact avec la muqueuse oropharyngée et les amygdales; le pH gastrique étant beaucoup trop bas pour permettre la survie du virus (Benfield *et al.*, 1992b; Bloemraad *et al.*, 1994; van der Linden *et al.*, 2003). La voie orale pourrait également être sollicitée chez les porcelets suite au contact avec des sécrétions nasales de la truie ou l'ingestion de sécrétions mammaires infectées (Wagstrom *et al.*, 1998).

Intra-vaginale ou utérine

Les voies intra-vaginale ou intra-utérine sont également documentées expérimentalement (Christianson *et al.*, 1993; Gradil *et al.*, 1996; Prieto *et al.*, 1997). Fièvre, séroconversion ainsi que problèmes de conception ont été notés chez des cochettes inséminées avec de la semence contaminée (Yaeger *et al.*, 1993; Gradil *et al.*, 1996). L'agent a été mis en évidence dans les ovaires, les amygdales et les nœuds lymphatiques de cochettes inséminées avec de la semence contaminée (Gradil *et al.*, 1996; Prieto *et al.*, 1997). Un risque réel d'infection des embryons et de mortalité embryonnaire a été démontré (Prieto *et al.*, 1997). Les conséquences liées à cette voie d'infection découleraient plutôt du potentiel de transmission transplacentaire pouvant survenir si la truie devient virémique en dernière phase de gestation.

Transplacentaire

Cette voie d'infection est à l'origine de la transmission verticale, soit la transmission d'un agent pathogène d'une génération à une autre, c'est-à-dire de la mère vers sa progéniture au cours, entre autres, du stade prénatal (adapté de Last (2001)). Au cours du premier tiers de gestation et jusqu'en mi-gestation (45-50 j), les fœtus supportent la réplication virale sans démontrer de lésions (Lager et Mengeling, 1995) ou de mort fœtale (Christianson *et al.*, 1992). Le virus peut également se transmettre des fœtus inoculés vers les non inoculés et se répliquer au sein de ces derniers (Lager et Mengeling, 1995). D'autre part, certains n'ont pas réussi à démontrer la transmission transplacentaire lorsque la truie était inoculée à 45 j de gestation (Kranker *et al.*, 1998) ni à isoler le virus des fœtus (Christianson *et al.*, 1993). Ces derniers résultats indiquent que même si les truies sont susceptibles à l'infection, devenant virémiques et excrétaient le virus dans leurs fèces et sécrétions nasales, le virus ne passe pas efficacement la barrière placentaire en mi-gestation (Christianson *et al.*, 1993). Compte tenu du peu de différence temporelle dans la susceptibilité des fœtus à l'infection, l'hypothèse d'une plus grande résistance des fœtus plus jeunes ou alors une plus grande probabilité de transmission transplacentaire dans les stades ultérieurs peut être émise. Des changements morphologiques rendant le placenta plus perméable aux échanges mère-fœtus au fil de la gestation ont d'ailleurs été mentionnés (Christianson *et al.*, 1993).

Lorsque la truie est virémique en fin de gestation, le virus SRRP peut traverser le placenta sous la forme libre ou alors associé à des macrophages maternels (Terpstra *et al.*, 1991a; Lager et Mengeling, 1995) et infecter les fœtus (Christianson *et al.*, 1992; Mengeling *et al.*, 1998). Un fort

taux d'infection transplacentaire et de mort fœtale survient suite à une exposition à 90 j de gestation (Lager *et al.*, 1997b), mais la transmission est également observée à 72 et 85 j de gestation (Kranker *et al.*, 1998). À 85 j, 56% des porcelets ont subi une infection transplacentaire et étaient alors mort-nés ou mourraient dans les premières 6-8 semaines de vie (Kranker *et al.*, 1998). Les porcelets infectés par voie transplacentaire peuvent également naître virémiques et le virus peut être isolé de leurs poumons ou tissus lymphoïdes (Kranker *et al.*, 1998; Benfield *et al.*, 2000). Ainsi, la virémie est documentée chez 75% des porcelets nés de truies expérimentalement infectées à 90 j de gestation, le reste des porcelets devenant positifs dans les 2 semaines suivant la naissance (Benfield *et al.*, 2000). Du virus a également pu être isolé des amygdales et nœuds lymphatiques jusqu'à 132 j de vie (Benfield *et al.*, 2000).

Cellules cibles et distribution tissulaire

Tout comme les autres arterivirus, le virus du SRRP est très spécifique d'hôte. Les cellules cibles de la réplication primaire sont les macrophages alvéolaires pulmonaires (Pol *et al.*, 1991; Plagemann et Moennig, 1992; Molitor *et al.*, 1997; Thanawongnuwech *et al.*, 1997, 1998; Thanawongnuwech *et al.*, 2000). La réplication virale est restreinte au cytoplasme des cellules susceptibles et suivie par l'apoptose ou la nécrose cellulaire induite par la protéine GP5, mais également via les cytokines inflammatoires telles que le TNF α (Mardassi *et al.*, 1994; Dea *et al.*, 1995; Suarez *et al.*, 1996; Fernandez *et al.*, 2002; Labarque *et al.*, 2003a; Miller et Fox, 2004). Une fois répliqué, l'arterivirus se distribue ensuite aux tissus lymphoïdes régionaux adjacents pour ensuite initier une virémie et se distribuer de façon systémique. La présence du virus SRRP au sein de différents tissus s'explique entre autres par l'importance de la distribution tissulaire des macrophages, la permissivité de ceux-ci pouvant néanmoins différer (Rossow *et al.*, 1995; Rossow *et al.*, 1996a; Benfield *et al.*, 2000). Lors d'infection expérimentale, le virus est non seulement retrouvé dans les poumons, mais également dans les amygdales, les nœuds lymphatiques, le sérum, le thymus, la rate, le cœur, le cerveau, le plexus choroïde, la moelle osseuse, la muqueuse nasale, les glandes bulbo-urétrales, les ovaires et dans le muscle (Pol *et al.*, 1991; Collins *et al.*, 1992; Bloemraad *et al.*, 1994; Rossow *et al.*, 1994; Christopher-Hennings *et al.*, 1995a; Gradil *et al.*, 1996; Rossow *et al.*, 1996a; Prieto *et al.*, 1997). La distribution tissulaire varie dans le temps et pourrait également dépendre de la souche virale impliquée (Pol *et al.*, 1991; Rossow *et al.*, 1994; van der Linden *et al.*, 2003).

Persistence

Suivant la phase aiguë d'infection, les porcs peuvent demeurer infectés de manière persistante, le virus continuant à se répliquer à un faible niveau au sein d'un petit nombre de cellules permissives en s'évadant du système immunitaire (Wills *et al.*, 1997c; Allende *et al.*, 2000). Il s'agit d'une caractéristique commune aux arterivirus (Plagemann et Moennig, 1992). La persistance serait plus importante au niveau des amygdales et des nœuds lymphatiques médiastinaux (Pol *et al.*, 1991; Rossow *et al.*, 1994; Christopher-Hennings *et al.*, 2001; Lamontagne *et al.*, 2003). L'élimination du virus diminuerait graduellement avec le temps. Basé sur le nombre de biopsies d'amygdales positives par RT-PCR (n=28), il a été mentionné que la proportion de porcs infectés de façon persistante chutait de 71 à 4% entre le jour 84 et 119 PI (Wills *et al.*, 2003). Dans une autre étude, la proportion de porcs infectés de façon persistante était de 100 et 91% au jour 63 et 105 PI (Horter *et al.*, 2002). Même si la plupart des porcs infectés éliminent le virus en moins de 5 mois PI, des persistances supérieures ont été notées (Allende *et al.*, 2000; Bierk *et al.*, 2001b; Batista *et al.*, 2002a). Ainsi, Wills *et al.* (1997c) ont isolé le virus 157 j de tissus oropharyngés, sans que le virus soit présent dans le sang et autres tissus et ce, plusieurs semaines après le pic maximal de la réponse humorale. Ils ont même identifié 6 porcs infectés de manière persistante entre 225 et 251 j par RT-PCR (Wills *et al.*, 2003). La fréquence tout comme les facteurs favorisant la persistance au sein des populations porcines sont peu documentés. Dans une population échantillonnée 9 mois après la fermeture du troupeau, le nombre d'animaux reproducteurs porteurs du virus de manière persistante était faible, soit 1.7% (Bierk *et al.*, 2001a). La stabilité génétique du virus pourrait également être compromise. Alors que certains rapportent la stabilité de l'ORF 7 durant le phénomène de persistance (Le Gall *et al.*, 1997; Le Gall *et al.*, 1998), d'autres mentionnent la présence de mutations à l'ORF 5 et à d'autres cadres de lecture (Rowland *et al.*, 1999; Allende *et al.*, 2000).

Fluides contaminés

En raison de sa large distribution tissulaire, un grand nombre de fluides peuvent être contaminés par le virus SRRP et devenir des sources infectieuses. Les résultats des études expérimentales portant sur les voies d'excrétion peuvent différer en raison de la souche virale utilisée, de l'hôte, de l'échantillonnage ou alors des procédures diagnostiques utilisées (Wills *et al.*, 1997b). Néanmoins, toutes ces études démontrent une grande diversité de fluides potentiellement contaminés.

Sang ou sérum

Suivant des infections expérimentales, le virus a été isolé dans le sérum pour des durées variant entre 9 et 35 j (Christianson *et al.*, 1993; Yoon *et al.*, 1993; Wills *et al.*, 1997b; Horter *et al.*, 2002; Meier *et al.*, 2003; Batista *et al.*, 2004). De l'ARN viral a même été identifié dans le sérum 91 j PI pour 2/35 porcs inoculés (Horter *et al.*, 2002). Alors qu'une durée moyenne de virémie de 28 j était rapportée pour des porcelets inoculés, une virémie de 19, 17 et 4 j a été observée pour les sentinelles mises en contact avec les porcelets inoculés au jour 3, 10 et 24 PI (Yoon *et al.*, 1993). La durée de la virémie pourrait donc varier avec le type d'exposition, mais également avec plusieurs facteurs relatifs à l'hôte dont l'âge de l'animal. La virémie semble plus courte chez les truies comparativement aux porcelets, variant entre 1 et 9 jours selon les études (Christianson *et al.*, 1993; Kranker *et al.*, 1998).

Expérimentalement, les titres sériques des porcelets inoculés sont entre $10^{3.6}$ - $10^{6.4}$ et entre $10^{5.6}$ - $10^{6.6}$ copies de génome respectivement au jour 5 et 10 PI (Hermann *et al.*, 2007). Un titre de $10^{2.9}$ TCID₅₀/mL au jour 5 PI a également été obtenu suite à l'infection d'une truie en migration (Christianson *et al.*, 1993). La concentration sérique (qRT-PCR) serait supérieure suite à l'administration d'une souche virulente (Cho *et al.*, 2007) ou en présence de coinfection par *Mycoplasma hyopneumoniae* (Cho *et al.*, 2006). L'effet de l'âge du porc au moment de l'infection sur la concentration sérique est variable. Alors que certains ne perçoivent aucune différence entre 2 et 6 mois d'âge (Cho *et al.*, 2006), d'autres en notent une parmi les porcs âgés de 4, 8 et 12 semaines, les plus jeunes ayant une virémie supérieure (Prickett *et al.*, 2008). Chez les plus jeunes, des résultats qRT-PCR positifs ont été enregistrés jusqu'à 63 j, les titres atteignant leur apogée, 4.1 et 4.3 log₁₀ TCID₅₀/mL, à 7 et 10 j PI (Prickett *et al.*, 2008).

Sécrétions nasales

Le virus n'est pas facilement isolé des sécrétions nasales. Ainsi, on mentionne son isolement pour 6.4% des 156 écouvillons prélevés sur 16 porcs inoculés par voie intra-nasale ou placés en contact avec les porcs inoculés (Yoon *et al.*, 1993). Dans une autre étude, aucun virus n'a pu être isolé au jour 1, 4, 7 et 14 PI, seuls 3/15 écouvillons prélevés au jour 21 PI étant positifs (Rossow *et al.*, 1994). Certains ont réalisé un isolement plus tardif à 38 j PI, et mentionnent également que la présence du virus dans les sécrétions nasales n'était pas constante avec la présence de virémie (Yoon *et al.*, 1993). Finalement, une concentration moyenne de 1.2×10^0 et

1.0×10^1 TCID₅₀/mL est rapportée, sans présenter de différence significative entre les souches de faible et grande virulence (Cho *et al.*, 2007).

Salive

Le virus a été isolé d'écouvillons buccaux du jour 7 à 42 PI (Wills *et al.*, 1997b). Dans une autre étude où la survie du virus a été évaluée au sein de différents substrats, l'isolement dans la salive n'était possible que dans les 30 minutes suivant l'inoculation (Pirtle et Beran, 1996). Utilisant un qRT-PCR, des résultats positifs ont été obtenus dès le jour 3 PI et pour respectivement 4 et 5 semaines dans la salive et le sérum (Prickett *et al.*, 2008). Le titre salivaire le plus élevé était de $1.8 \log_{10}$ TCID₅₀/mL, observé 1 semaine PI (Prickett *et al.*, 2008). L'âge à l'inoculation (4, 8 ou 12 semaines) n'avait pas d'effet sur la quantité ni sur la durée de la présence du virus dans la salive (Prickett *et al.*, 2008).

Semence

Expérimentalement, le virus apparaît dans la semence 3-7 j PI, l'excrétion se montre variable, intermittente et dure généralement plus de 35 jours, mais peut atteindre 92 j PI (Yaeger *et al.*, 1993; Swenson *et al.*, 1994; Christopher-Hennings *et al.*, 1995a). Il ne semble pas y avoir de différence significative dans la durée d'excrétion pour les verrats Landrace, Yorkshire et Hampshire (Christopher-Hennings *et al.*, 2001). Cette même équipe a détecté le virus plus longtemps dans la semence que dans le sang ou les cellules mononucléaires pour 4/7 verrats inoculés.

Urine

Le virus n'a pu être isolé d'échantillons d'urine collectés lors de la nécropsie que chez un seul des 9 porcs inoculés 28 j plus tôt, mais sur aucun des 10 porcs inoculés 7 j plus tôt (Rossow *et al.*, 1994). Une autre étude mentionne son isolement 14 j PI (Wills *et al.*, 1997b), alors que d'autres rapportent l'absence de survie du virus dans l'urine au-delà de 24 h, suite à l'inoculation du virus dans l'urine (Pirtle et Beran, 1996). Le virus a donc été isolé dans l'urine de façon sporadique, suggérant tout de même l'existence de cette voie d'excrétion dans les deux premières semaines suivant l'infection.

Fèces

Le virus peut être isolé des fèces de porcs infectés expérimentalement, mais de façon non fréquente, voire occasionnelle (Christianson *et al.*, 1993; Yoon *et al.*, 1993; Rossow *et al.*, 1994;

Wills *et al.*, 1997b). Il a été identifié jusqu'à 35 j PI dans les fèces d'un porcelet sur 4 (Yoon *et al.*, 1993). Similairement, 2/15 écouvillons prélevés au jour 28 PI se révélaient positifs, mais sans pouvoir l'isoler de 105 écouvillons collectés au jour 1, 4, 7, 14, 21 PI (Rossow *et al.*, 1994). Également, Wills *et al.* (1997b) n'ont pas réussi à isoler le virus jusqu'au jour 42 sur des porcelets de 3 semaines d'âge. Certaines études ont généré des informations concernant la survie du virus dans les fèces. Alors que le virus ne peut survivre dans les fèces au-delà de 24 h après l'inoculation de fumier (Pirtle et Beran, 1996), d'autres auteurs documentent sa persistance au sein des lagunes sous la forme infectieuse jusqu'à 3 j à 20°C et pour 7 j à 4°C (Dee *et al.*, 2005e).

Sécrétions mammaires

Du virus infectieux a été identifié du jour 2 à 9 de la période de lactation dans les sécrétions mammaires de 3 truies sur 4 ayant reçu un vaccin vivant atténué ou inoculées par voie intranasale avec une souche de terrain (Wagstrom *et al.*, 1998). Aucune étude documentant la concentration virale dans le lait n'a toutefois été répertoriée.

Signes cliniques

Le virus SRRP entraîne des signes cliniques variant entre l'infection non symptomatique et persistante jusqu'à la maladie sévère et fatale (Plagemann et Moennig, 1992; Le Potier *et al.*, 1997; Zimmerman *et al.*, 1997b; Hurd *et al.*, 2001; Larochelle *et al.*, 2003). Au sein des élevages, l'expression clinique est variable et dépend de facteurs individuels, de troupeau et environnementaux (Blaha, 2000; Mengeling *et al.*, 2000; Nodelijk, 2002). Ainsi, l'âge, la race, le statut immunitaire des animaux et du troupeau, la présence d'infections concomitantes ou de mycotoxines, le type de production, la virulence de la souche et la dose d'infection ont été des facteurs suggérés dans la littérature (Halbur *et al.*, 1995; Halbur et Bush, 1997; Pejsak *et al.*, 1997; Yoon *et al.*, 1999; Hurd *et al.*, 2001; Zimmerman et Yoon, 2003; Opriessnig *et al.*, 2005). Également, lorsque présents, les signes cliniques sont souvent interreliés soutenant ainsi l'appellation de syndrome. En effet, une étude mentionne plusieurs corrélations entre les différents problèmes reproducteurs et de mortalité pouvant être observés au sein des élevages infectés (Goldberg *et al.*, 2000b). Les sections suivantes décrivent les signes cliniques pour chaque stade de production.

Animaux reproducteurs

Phase épidémique

Les truies peuvent présenter des signes systémiques tels que la léthargie, l'inappétence et la pyrexie 1 à 3 semaines suivant l'introduction du virus au sein du troupeau (Auvigne *et al.*, 1994; Christianson et Joo, 1994). L'inappétence dure de 1 à 7 jours pouvant affecter 5-50% des truies (White, 1991; Bilodeau *et al.*, 1994; Christianson et Joo, 1994). Bien que la pyrexie excède rarement 40°C, une température de 41°C est rapportée et elle peut affecter environ 30% des animaux (Christianson *et al.*, 1993; Christianson et Joo, 1994; Pejsak *et al.*, 1997; Hurd *et al.*, 2001). De la cyanose peut être observée durant quelques heures à quelques jours aux oreilles, à la vulve, à la glande mammaire, à la queue, à l'abdomen et au groin d'où l'appellation «blue ear disease» (White, 1991; Hopper *et al.*, 1992; Auvigne *et al.*, 1994; Christianson et Joo, 1994; Pejsak *et al.*, 1997). Elle peut évoluer vers une nécrose dans les cas extrêmes.

La phase épidémique est également marquée par des mises bas prématurées, des avortements ou de la mortalité chez les truies (Mousing *et al.*, 1997; Weigel *et al.*, 2000). Les mises bas prématurées survenant entre 107 et 113 jours de gestation peuvent affecter entre 5 à 30% des truies et ont été reproduites expérimentalement (Christianson *et al.*, 1992; Christianson et Joo, 1994; Pejsak *et al.*, 1997). Des avortements, soit des pertes de gestation <107 j, peuvent toucher 1 à 3% des truies voire 10 à 50% d'avortements sur une période de 3 à 6 semaines (Christianson et Joo, 1994; Halbur et Bush, 1997; Hurd *et al.*, 2001). Finalement, la mortalité chez les truies peut atteindre jusqu'à 5-10% de l'inventaire sur une période de 1 à 5 semaines (Christianson et Joo, 1994; Pejsak *et al.*, 1997; Hurd *et al.*, 2001). La dyspnée chez les animaux adultes est occasionnelle (Christianson et Joo, 1994), tout comme les signes cliniques chez les verrats. Lors d'une infection expérimentale de 4 verrats, seulement 2 ont présenté des signes respiratoires modérés durant un jour, sans qu'aucun changement dans l'appétit, le comportement, la libido ainsi que dans la morphologie, la concentration ou la motilité des spermatozoïdes ne soit noté (Swenson *et al.*, 1994). Des altérations dans la motilité et la morphologie des spermatozoïdes ont toutefois été observées par d'autres (Christopher-Hennings *et al.*, 1997).

Phase intermédiaire

D'une durée de 8-12 semaines, cette phase se caractérise au sein du troupeau par des mises bas prématurées, mais également par une augmentation du nombre de porcelets faibles, mort-nés

et/ou momifiés et par une mortalité pré-sevrage élevée (Stevenson *et al.*, 1993a; Christianson et Joo, 1994). Au sein d'une portée, une hétérogénéité importante est notée, porcelets mort-nés, momifiés, donc morts in utero, faibles ou normaux pouvant être présents simultanément (Martineau, 1997; Pejsak *et al.*, 1997). Chez un naisseur-finiisseur, le deuxième mois suivant l'introduction de la maladie était associé à des pertes sévères: 54, 24 et 22% respectivement de porcelets nés vivants, mort-nés et momifiés (Pejsak et Markowska-Daniel, 1997). Même si le pourcentage de mort-nés peut demeurer élevé pendant 8-12 semaines, les mort-nés sont graduellement remplacés par les fœtus momifiés, témoignant de l'infection des truies à un stade plus précoce de leur gestation (Christianson et Joo, 1994).

Phase chronique

Quoique les pertes de performances surviennent principalement dans les 3 premiers mois suivant l'introduction du virus (Stevenson *et al.*, 1993a; Bilodeau *et al.*, 1994), elles peuvent être affectées plus longuement. Ainsi, dans un troupeau de 2330 truies, la conception chutait de 84% (avant la crise) à 48% (5 mois après la crise) et n'était toujours pas revenu à son niveau initial un an après la crise (Pejsak *et al.*, 1997). Similairement, les pourcentages de mises bas prématurées et de momifiés ne revenaient pas à la normale avant respectivement 10 et 11 mois (Pejsak et Markowska-Daniel, 1997; Pejsak *et al.*, 1997). Par contre, on documente une association positive entre la séroconversion des truies et les portées aberrantes (augmentation des mort-nés, faible pourcentage de nés vivants ou mortalité pré-sevrage élevée) pour les 6 premiers mois suivant la crise, sans toutefois l'observer ultérieurement, ne supportant donc pas l'impact à long terme de la maladie chez les troupeaux infectés de manière endémique (Nodelijk *et al.*, 2000).

Porcs en croissance

En période néonatale, les signes cliniques sont attribuables à l'infection des porcelets ou conséquents à l'infection de la truie. En effet, la présence d'agalactie ou de problèmes de comportement est rapportée chez 30% des truies, refusant donc d'alimenter leurs porcelets. Généralement, les porcelets nés avant terme meurent après quelques jours de vie alors que ceux naissant à un faible poids sont particulièrement susceptibles au coma hypoglycémique (Pejsak *et al.*, 1997). Les porcelets peuvent également présenter de l'anorexie, de l'amaigrissement, de l'hirsutisme, de la cyanose cutanée, de la dyspnée et de la faiblesse des membres postérieurs (Stevenson *et al.*, 1993b; Pejsak *et al.*, 1997). Chez 7/9 des porcelets âgés

d'une semaine et expérimentalement infectés, de l'œdème des paupières ou péri-oculaire a été observé aussi tôt que 6 j PI et pour une durée moyenne de 15 j (Rossow *et al.*, 1994; Pejsak *et al.*, 1997). De l'hyperhémie de la conjonctive, des éternuements, de la diarrhée ainsi que très rarement, des vomissements et des signes cliniques nerveux sont également rapportés (Collins *et al.*, 1992; Christianson et Joo, 1994; Rossow *et al.*, 1994; Pejsak *et al.*, 1997). Durant une crise, la mortalité pré-sevrage augmente, pouvant atteindre 35% pour les 2 mois suivant l'introduction du virus (Bilodeau *et al.*, 1994; Christianson et Joo, 1994; Pejsak et Markowska-Daniel, 1997). On mentionne également que sur une période de 4.5 mois, la moitié des porcelets étaient mort-nés ou mourraient peu après la naissance (Pejsak *et al.*, 1997).

En période post-sevrage, les signes cliniques suivants peuvent être notés: fièvre, œdème péri-oculaire, sécrétions naso-lacrimes, hyperpnée, dyspnée, éternuements, hypertrophie des nœuds lymphatiques, réduction du gain de poids et de l'efficacité alimentaire et augmentation de la mortalité (Rossow *et al.*, 1994; Mousing *et al.*, 1997; Weigel *et al.*, 2000; Cuartero *et al.*, 2002; Mengeling *et al.*, 2003b; Neumann *et al.*, 2005). Même si certaines infections expérimentales ont réussi à induire des signes respiratoires ou systémiques (Halbur *et al.*, 1995; Otake *et al.*, 2002c), beaucoup ont échoué (Collins *et al.*, 1992; Plana Duran *et al.*, 1992; Albina *et al.*, 1994; Rossow *et al.*, 1995). Pourtant, sur le terrain, les porcs en croissance peuvent présenter des signes respiratoires importants (Bilodeau *et al.*, 1994). Outre la souche virale à laquelle les porcs sont exposés (Halbur *et al.*, 1995; Halbur *et al.*, 1996), la présence fréquente de coinfections bactériennes ou virales faisant partie du complexe respiratoire porcin pourrait expliquer les signes cliniques observés sur le terrain (Stevenson *et al.*, 1993b; Zeman *et al.*, 1993; Dee, 1996; Pejsak *et al.*, 1997). Au sein d'un troupeau naisseur-finisserieur, on rapportait respectivement 28 et 27% de mortalité chez les porcs en pouponnière et en engraissement, soit un mois après le début de la crise ou au pic de la crise (Pejsak et Markowska-Daniel, 1997). En engraissement, un pourcentage de mortalité variable mais parfois très élevé, est également documenté par d'autres (1.5-15%) (Neumann *et al.*, 2005).

Lésions

Macroscopiques

Les lésions les plus remarquables se situent au niveau des systèmes respiratoire et lymphoïde, soit les principaux sites de répliation (Pol *et al.*, 1991; Halbur *et al.*, 1995). Suivant l'inoculation expérimentale ou la nécropsie de porcs naturellement infectés, des lésions pulmonaires aux

lobes crânial, moyen et accessoire ainsi qu'à la portion ventromédiale des lobes caudaux sont observées (Stevenson *et al.*, 1993b; Opriessnig *et al.*, 2005). Les zones affectées du poumon sont bien démarquées, impossibles à collapser et sont de taille variable pouvant souvent atteindre plus de 40% de la surface pulmonaire voire 90% (Mengeling *et al.*, 2003b; Opriessnig *et al.*, 2005). Ces lésions ne sont pas toujours faciles à induire expérimentalement (Rossow *et al.*, 1994) et il arrive qu'aucun changement ne soit visible à la nécropsie (Pejsak *et al.*, 1997). Les lésions pulmonaires semblent en effet varier en fonction de la souche et de la présence de vaccination (Halbur *et al.*, 1995; Opriessnig *et al.*, 2005), sans toutefois y avoir de relation entre la charge virale et la sévérité des lésions (Yoo *et al.*, 2004). Les nœuds lymphatiques cervicaux, thoraciques et inguinaux sont généralement augmentés de volume, bien qu'une grande variabilité individuelle soit remarquée (Bilodeau *et al.*, 1994; Cuartero *et al.*, 2002; Mengeling *et al.*, 2003b).

Microscopiques

Bien que non pathognomonique de la condition, une pneumonie interstitielle qualifiée de proliférative et nécrosante est souvent observée (Pol *et al.*, 1991; Collins *et al.*, 1992; Bilodeau *et al.*, 1994; Pejsak *et al.*, 1997). Les septas alvéolaires sont infiltrés par de nombreuses cellules mononucléaires telles que des lymphocytes ou des macrophages (Rossow *et al.*, 1994; Opriessnig *et al.*, 2005). Une hyperplasie et hypertrophie réactionnelles des pneumocytes de type 2 ainsi qu'un exsudat alvéolaire contenant des cellules inflammatoires et des débris nécrotiques sont également remarqués (Rossow *et al.*, 1994; Halbur *et al.*, 1995; Opriessnig *et al.*, 2005). Une hyperplasie folliculaire qualifiée de moyenne à modérée et des foyers de nécrose démontrent que plusieurs tissus lymphoïdes et nœuds lymphatiques sont réactifs comme les amygdales, les nœuds lymphatiques rétro-pharyngés, mandibulaires, médiastinaux caudaux, inguinaux superficiels, iléo-coliques et coliques et les plaques de Peyer (Rossow *et al.*, 1994; Halbur *et al.*, 1995; Opriessnig *et al.*, 2005). D'autres lésions sont occasionnellement observées, telles que des myocardites ou artérites chez des porcelets naturellement ou expérimentalement infectés (Rossow *et al.*, 1994; Halbur *et al.*, 1995; Rossow *et al.*, 1996b; Kranker *et al.*, 1998; Opriessnig *et al.*, 2005). Des hépatites et encéphalites lymphoplasmocytaires ont également été mises en évidence sur des fœtus naturellement ou expérimentalement infectés (Collins *et al.*, 1992; Halbur *et al.*, 1993; Rossow *et al.*, 1996b; Opriessnig *et al.*, 2005). Tel que noté pour les lésions pulmonaires, l'intensité des lésions de myocardite et d'encéphalite peut également varier selon la souche inoculée (Opriessnig *et al.*, 2005).

Réponse immunitaire

Immunité innée

La première ligne de défense consiste en l'activité antivirale promue par les cellules infectées, soit les macrophages, et leur capacité à produire de l'IFN α et β qui activent par la suite la synthèse de plusieurs protéines supprimant la synthèse des protéines virales (Murtaugh *et al.*, 2003). Les cytokines proinflammatoires comme l'IFN α , le TNF α et l'IL-1 ont un rôle déterminant pour plusieurs conditions respiratoires (van Reeth et Nauwynck, 2000). Or, suivant l'inoculation expérimentale, l'IFN α est observé en faible quantité dans le sérum, mais est absent des sécrétions pulmonaires pour la majorité des porcs (Albina *et al.*, 1998) pouvant ainsi faciliter la réplication virale au sein des macrophages. D'autres études corroborent le peu d'IFN α produit par les macrophages (Buddaert *et al.*, 1998). Le virus SRRP échoue également à stimuler d'autres cytokines inflammatoires telles que le TNF α ou IL-1 (Lopez-Fuertes *et al.*, 2000; Thanawongnuwech *et al.*, 2001). Conjointement, ces résultats indiquent donc une faible réponse immunitaire innée en regard du virus SRRP.

Immunité humorale

Les anticorps IgM sont détectés à partir de 5-7 j PI et une séroconversion est notée pour la majorité des animaux à 14 j, moment où les anticorps atteignent leur pic de production (Yoon *et al.*, 1995; Vezina *et al.*, 1996). Les IgM chutent ensuite à un niveau non détectable à 42 j PI. Quant aux IgG, la séroconversion se produit entre les jours 9-11 et 11-21 PI suivant respectivement l'inoculation intra-musculaire et intra-nasale (Christianson *et al.*, 1993; Yoon *et al.*, 1999) et atteignent un pic entre 21-49 j PI (Loemba *et al.*, 1996; Horter *et al.*, 2002). De façon générale, la présence d'anticorps est observée pour une durée de 4 et 6 mois (Batista *et al.*, 2004), soit pour toute la durée de vie des porcs commerciaux. D'autres rapportent également qu'environ le tiers de truies ayant vécu une crise de SRRP étaient toujours séropositives 20 mois après l'exposition et ce, en l'absence de circulation virale au sein du troupeau (Desrosiers et Boutin, 2002): résultat similaire à celui obtenu dans le cadre d'une étude expérimentale (Lager *et al.*, 1997a). La présence simultanée de virémie et d'anticorps indique que les premiers anticorps produits ne sont que peu efficaces à la clairance virale (Rossow *et al.*, 1994; Lopez *et al.*, 2007). Les dommages cellulaires, la réplication virale, l'excrétion ainsi que la transmission sont donc favorisés puisque les porcs sont incapables d'éliminer rapidement le virus en phase aigüe d'infection (Lopez *et al.*, 2007). Les anticorps

neutralisants apparaissent normalement à plus de 4 semaines après l'infection initiale pour atteindre des titres maximaux à 10 semaines. Les épitopes A et B de la protéine GP5 sont les principales cibles de la réponse neutralisante (Ostrowski *et al.*, 2002), même si les gènes ORF 3-6 seraient également impliqués (Kim et Yoon, 2008). Suivant l'inoculation d'anticorps neutralisants, l'effet protecteur a été expérimentalement démontré par une absence de virémie et de virus dans les tissus 45 j PI (Osorio *et al.*, 2002). D'autres corroborent également l'efficacité des anticorps neutralisants (Albina *et al.*, 1994; Yoon *et al.*, 1995; Ostrowski *et al.*, 2002), mais la virémie et la persistance est tout de même possible en leur présence (Rossow *et al.*, 1994; Wills *et al.*, 1997c). Le niveau d'anticorps semble important pour contrôler la réplication virale: des titres de 1/8 et de 1/4 respectivement protégeaient contre l'apparition de la virémie et réduisaient la charge virale (Murtaugh *et al.*, 2003; Lopez *et al.*, 2007).

Immunité passive

Aux Pays-Bas, la séroprévalence des porcelets >4-5 semaines était significativement supérieure à celle des porcs âgés de 8-9 semaines, suggérant la présence de l'immunité maternelle chez les plus jeunes (Nodelijk *et al.*, 1997). En effet, les truies préalablement immunisées peuvent transmettre une immunité passive à leurs porcelets par le colostrum. La durée de celle-ci varie entre 4 et 10 semaines (Albina *et al.*, 1994; Houben *et al.*, 1995; Chung *et al.*, 1997; Nodelijk *et al.*, 1997), les anticorps déclinant graduellement; 100, 69, 34 et 3% des porcelets étant séropositifs respectivement à 1, 4, 5 et 8 semaines d'âge (Nodelijk *et al.*, 1997). Cette perte d'immunité passive entraîne donc graduellement une susceptibilité accrue aux infections naturelles. Au sein de 7/8 élevages naisseurs-finisieurs, les taux d'isolement viral chez les porcelets atteignaient leur apogée (70-100%) à 6-8 semaines d'âge, soit lors que l'immunité passive était à son minimum (Chung *et al.*, 1997). L'immunité passive transférée au porcelet est également positivement corrélée avec les titres sérologiques observés chez des truies (Chung *et al.*, 1997; Nodelijk *et al.*, 1997). Finalement, une corrélation négative a été observée entre l'isolement viral dans le sérum et les titres d'anticorps chez les porcelets (Chung *et al.*, 1997), soutenant leur effet protecteur.

Immunité cellulaire

Une réponse lymphoproliférative médiée par les lymphocytes T est dirigée, entre autres, vers la glycoprotéine GP5 (Bautista *et al.*, 1999). La réponse immunitaire cellulaire débute 4 semaines PI et dure jusqu'à 9-10 semaines PI (Bautista et Molitor, 1997; Lopez-Fuertes *et al.*, 1999). Les

cellules stimulées expriment alors de l'IFN γ étant également présent 4 semaines PI (Meier et al. 2000). L'IFN γ est présent dans les nœuds lymphatiques, les poumons et les cellules mononucléaires sanguines des porcs infectés (Lopez-Fuertes *et al.*, 1999; Rowland *et al.*, 2001) et empêche la réplication virale en culture cellulaire (Bautista et Molitor, 1999). Une corrélation positive a été observée entre la fréquence de cellules sécrétant de l'IFN γ et la protection contre une éventuelle virémie dans un modèle expérimental (Albina *et al.*, 1998), mais on ne connaît pas précisément la quantité requise pour assurer une protection. On mentionne également que l'immunité cellulaire ayant une action neutralisante pourrait prendre jusqu'à 6 mois à se développer (Meier *et al.*, 2003).

Défis homologue et hétérologue

Bien que les composantes exactes nécessaires à l'établissement de la réponse immunitaire ne soient qu'imparfaitement connues (Meier *et al.*, 2003), les animaux vaccinés ou ayant survécu à une infection naturelle semblent protégés contre un défi homologue (Lager *et al.*, 1997a; Okuda *et al.*, 2008). La durée de l'immunité, voire la protection contre les problèmes reproducteurs, face à une souche homologue a été évaluée et semble être de longue durée, les cochettes ne présentant pas de signe clinique ni de virémie (Lager *et al.*, 1997a). Similairement, aucun verrat n'excrétait le virus dans la semence si inoculé avec une souche de terrain et réexposé 128 j plus tard (Christopher-Hennings *et al.*, 1995a). La protection lors de défis hétérologues est également rapportée, mais celle-ci demeure souvent partielle (Lager *et al.*, 1999; Opriessnig *et al.*, 2005). À titre d'exemple, après avoir vacciné des verrats avec un vaccin vivant atténué et les avoir exposés 50 jours plus tard à une souche hétérologue de terrain, 3/5 verrats ont excrété le virus dans la semence, toutefois la vaccination semblait diminuer la durée de la l'excrétion (Christopher-Hennings *et al.*, 1997).

Procédures diagnostiques

Détection de l'antigène

Isolement viral et techniques d'immunohistochimie

Le virus peut être isolé sur culture de macrophages alvéolaires pulmonaires (PAMs) (Wensvoort *et al.*, 1991), mais également sur d'autres cellules permissives telles que MARC-145 et CL2621 (Collins *et al.*, 1992; Bautista *et al.*, 1993b; Kim *et al.*, 1993). Un effet cytopathique est alors observé entre 2 et 4 jours (Benfield *et al.*, 1992b; Kim *et al.*, 1993). L'isolement est

considéré comme le test de référence, sauf pour quelques spécimens, dont la semence (Christopher-Hennings *et al.*, 1995b). Les procédés d'immunoperoxidase ou d'immunofluorescence permettent de visualiser microscopiquement la présence du virus dans le cytoplasme en région péri-nucléaire aussitôt que 6 heures PI (Bautista *et al.*, 1993b; Kim *et al.*, 1993). Les méthodes citées ci-dessus sont beaucoup plus utilisées aux fins de recherche pour des raisons de complexité, de coût et de temps nécessaire à la réalisation.

Réaction de polymérisation en chaîne (RT-PCR)

Elle vise à amplifier une portion du matériel génétique contenu dans l'échantillon. Cette méthode peut détecter aussi peu que quelques virions, lui conférant une excellente sensibilité analytique, qui est supérieure à celle de l'isolement (Batista *et al.*, 2002a). Cependant, contrairement à l'isolement viral, un résultat positif n'indique aucunement le pouvoir infectieux du matériel génétique identifié. Utilisant différentes amorces, les souches américaine et européenne peuvent être distinguées (Mardassi *et al.* 1994). Il s'agit d'un test rapide, relativement peu coûteux et s'adaptant à plusieurs types d'échantillons (Christopher-Hennings *et al.*, 1995b; Mengeling et Lager, 2000; Otake *et al.*, 2004; Batista, 2005). Outre la semence, cette méthode peut également être employée sur des échantillons obtenus par grattage oropharyngé, permettant de détecter des animaux infectés de façon persistante, mais sous le seuil de la séropositivité (Horter *et al.*, 2002; Wills *et al.*, 2003). Une corrélation positive ayant été obtenue entre les concentrations virales sérique et salivaire par qRT-PCR (Prickett *et al.*, 2008), ce test est particulièrement utile afin de détecter une infection au sein de larges populations.

Séquençage

Le séquençage constitue un outil épidémiologique permettant de préciser le diagnostic, de qualifier la diversité génétique présente sur un territoire, de suivre l'évolution temporelle des différents génotypes, mais également de mieux comprendre les sources de contamination (Goldberg *et al.*, 2000a; Batista *et al.*, 2003b; Mondaca-Fernandez *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2010). Il vise à établir la séquence exacte de nucléotides en fonction de certains cadres de lectures. Afin de différencier le plus grand nombre de souches virales, la région ORF5 est préférentiellement utilisée, étant reconnue pour sa grande variabilité génétique (Meng *et al.*, 1995b; Goldberg *et al.*, 2003; Larochelle *et al.*, 2003). Toutefois, la notion de seuil d'homologie pouvant définir la différence entre les souches est variable. Certains utilisent un seuil d'homologie pairée $\geq 98\%$; cette valeur était observée lors de comparaison de séquences qui étaient liées à l'introduction

d'animaux infectés (Larochelle *et al.*, 2003). Inversement, une homologie <92% était souvent observée lorsqu'aucun lien épidémiologique ne pouvait être rapporté (Larochelle *et al.*, 2003).

Patrons RFLP

Les patrons RFLP (Restrictive fragment length polymorphism) ont été conçus dans l'optique de pouvoir discriminer les souches SRRP vaccinales des souches de terrain à un coût inférieur au séquençage, la différenciation étant possible obtenant des patrons RFLP distincts à partir de l'ORF5 (Wesley *et al.*, 1998; Cai *et al.*, 2002; Opriessnig *et al.*, 2005). Brièvement, la technique vise à classer les différents virus en différents sous-génotypes en utilisant différentes enzymes de clivage telles que M1uI, HincII, SacII (Wesley *et al.*, 1998; Larochelle *et al.*, 2003). Cette technique est particulièrement sujette aux erreurs de classification. En effet, des souches similaires ont été associées à des patrons RFLP différents, alors que des souches ayant le même patron n'avaient que 88% d'homologie entre elles (Larochelle *et al.*, 2003). Par conséquent, plusieurs études cherchant à établir des liens épidémiologiques entre fermes ou alors à parfaire l'évolution temporelle des souches utilisent le séquençage (Meng *et al.*, 1995b; Goldberg *et al.*, 2000a; Batista *et al.*, 2003b; Mondaca-Fernandez *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2010).

Détection des anticorps

En ce moment, le test sérologique ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) est l'épreuve la plus utilisée et la méthode de choix pour la détection d'anticorps (Batista, 2005). L'ELISA peut détecter les anticorps développés face aux souches de génotype 1 et 2 (Cianni-Zanella *et al.*, 2004). La sensibilité et spécificité épidémiologiques peuvent varier en fonction du type d'ELISA commercial utilisé, mais sont respectivement supérieures ou égales à 97% et 99% (Mateu *et al.*, 2006; Carlsson *et al.*, 2009). Les épreuves sérologiques visent à identifier si un animal ou alors une population a été en contact avec le virus. À ce jour, elles ne permettent pas de différencier si le troupeau a été infecté avec une souche de terrain ou une souche vaccinale, pas plus qu'elles ne peuvent différencier l'immunité active de l'immunité passive. Également, les tests sérologiques ne permettent pas de déterminer si l'animal est virémique et excrète, s'il est infecté de manière persistante ou s'il a développé des anticorps neutralisants (Christopher-Hennings *et al.*, 2002; Batista, 2005).

Sources de virus

Différentes sources peuvent être impliquées dans l'épidémiologie de l'infection soit à titre de réservoir ou de véhicule environnemental. Un réservoir est défini comme tout organisme vivant ou substance pouvant assurer la survie et la multiplication de l'agent infectieux (adapté de Last (2001)). En ce qui concerne le SRRP, il s'agit principalement de l'espèce porcine (*Sus scrofa*), qui est la seule espèce pour laquelle l'infection naturelle par le virus SRRP est documentée (Albina, 1997). Dans le cadre de cette recension des écrits, le terme véhicule ou vecteur fera principalement référence à un support vivant ou inanimé assurant uniquement le transport mécanique du pathogène d'un hôte infecté à un hôte susceptible ou à son voisinage immédiat sans en assurer la multiplication (adapté de Last (2001)). Le terme vecteur biologique ne sera qu'occasionnellement employé afin de décrire les résultats de certaines études expérimentales évaluant le potentiel de multiplication du virus au sein de certaines espèces animales. La section suivante vise donc à décrire les principaux réservoirs et véhicules documentés dans la littérature au chapitre de la transmission de l'agent pathogène aux porcs domestiques.

Réservoirs

Porc domestique

Les porcs domestiques en période d'incubation, affectés cliniquement ou infectés de manière persistante constituent le réservoir déterminant dans l'épidémiologie de la maladie (Albina, 1997; Wills *et al.*, 1997c; Barrington *et al.*, 2006). L'importance du réservoir découle à la fois de la forte prévalence de l'infection et de la diversité des fluides contaminés excrétés, facilitant la transmission horizontale directe et indirecte aux porcs susceptibles. Également, une fréquence élevée de contacts directs entre les porcs infectés et susceptibles est inhérente à la production porcine. En effet, les introductions d'animaux de remplacement ou de porcs en croissance sont fréquentes et peuvent provenir de plusieurs fournisseurs (Boklund *et al.*, 2003; Nodelijk *et al.*, 2003; Boklund *et al.*, 2004; Ribbens *et al.*, 2009). Au Québec, les besoins annuels en cochettes de remplacement se chiffrent à environ 35-45% des truies en production (Denicourt et Klopfenstein, 2004). Au Danemark, plus de 50% des troupeaux reproducteurs peuvent s'approvisionner de source externe (Boklund *et al.*, 2003). La dernière étude mentionne également que parmi les sites s'approvisionnant de source externe, 1, 2 à 5 et >5 fournisseurs sont observés respectivement pour 63, 34 et 3% des sites (Boklund *et al.*, 2003). Le transport des cochettes était alors assuré à 79% par la compagnie SPF alors que 12% utilisaient les

services d'autres transporteurs et 9% effectuait leur propre transport (Boklund *et al.*, 2003). Le nombre de fournisseurs et de transporteurs a également été évalué pour les sites de croissance-finition en Belgique et au Danemark (Boklund *et al.*, 2004; Ribbens *et al.*, 2009). Dans une autre étude, on rapporte une fréquence de contacts directs attribuables à la livraison et à la sortie d'animaux respectivement de 1.2 et 4.8/mois pour les entreprises dénombrant <2000 porcs (n=12) et de 0.2 et 20.0 contacts pour celles ayant ≥ 2000 porcs (n=5), pouvant même aller jusqu'à environ 40 contacts/mois (Bates *et al.*, 2001).

Le transport d'animaux représente également un risque important pour la dispersion spatiale de l'infection sur le territoire. Suite à une période d'observation de 6 mois au Danemark, la distance euclidienne médiane et maximale pour les mouvements entre les fermes était respectivement de 22 et 289 km (Bigras-Poulin *et al.*, 2007). Similairement en Belgique, la distance médiane pour les mouvements de porcs entre fermes porcines (n=8510) était de 19 km, le tiers des 33 234 mouvements répertoriés étant effectués à l'intérieur d'un rayon de 10 km (Ribbens *et al.*, 2009). Tel qu'observé en Espagne et aux États-Unis, la production multi-site présente au Québec pourrait également augmenter la fréquence des déplacements d'animaux entre fermes (D'Allaire, 2000; Lopez-Soria *et al.*, 2010; Shi *et al.*, 2010). Au même titre que l'introduction de porcs infectés, la livraison de semence peut également faciliter la dispersion spatiale de l'infection. En effet, alors que dans certains pays ayant de très petites fermes, la saillie naturelle ou alors l'échange de verrats entre fermes soient observés (Costard *et al.*, 2009), les pays ou régions à forte production utilisent largement l'insémination artificielle, soit >85% pour le Québec et la Suède (Broes, 2002; Carlsson *et al.*, 2009). Outre les différents fournisseurs disponibles, l'influence du réservoir s'apprécie également par la fréquence de livraisons et du nombre de doses de semence achetées. Selon une étude danoise, le nombre médian de livraisons de semence est de 0.8, variant entre 0.3 et 6/semaine (Boklund *et al.*, 2003), alors que d'autres documentent que plus de 120 doses de semence sont introduites dans les élevages sur une période d'environ 6 mois (Mousing *et al.*, 1997).

Porc sauvage

Les porcs sauvages constituent un second réservoir de l'infection. En France, 8% des 254 sérums prélevés sur des porcs sauvages tués par des chasseurs étaient séropositifs au virus SRRP (Albina *et al.*, 2000). Au sein des porcs sauvages, une faible prévalence a également été observée dans d'autres pays soit, 0.4% dans un état de l'Allemagne en 1991-1992 (Oslage *et al.*, 1994) et 1.7% dans 13 comtés de l'Oklahoma aux États-Unis en 1996 (Saliki *et al.*, 1998).

L'infection n'a pu être détectée en Croatie sur 44 échantillons testés (Zupancic *et al.*, 2002) ni en Suède où la maladie fait objet d'un système de surveillance (Carlsson *et al.*, 2009). Outre la prévalence de porcs sauvages infectés, le potentiel du réservoir dépend également de leur abondance et de la possibilité d'interaction avec les porcs domestiques. En France en 1998, le nombre de porcs sauvages chassés atteignait plus de 300 000 alors que 40 000 étaient élevés au sein de 1500 fermes (Albina *et al.*, 2000). Aux États-Unis, on a estimé leur nombre à 4 millions (Pimentel *et al.*, 1999). Les élevages de porcs domestiques extérieurs maximisent la probabilité d'interaction avec les porcs sauvages (Saliki *et al.*, 1998; Albina *et al.*, 2000). Même si les chances de transmission des porcs domestiques vers les porcs sauvages sont probablement supérieures à la réciproque compte tenu de la pression d'infection présente chez les porcs domestiques (Albina *et al.*, 2000), le potentiel de transmission entre ces deux sous-espèces porcines reste à évaluer. Au Québec, bien que la présence et l'abondance des porcs sauvages tout comme la fréquence des élevages domestiques extérieurs ne soient pas documentées de façon exacte, le risque découlant de ce réservoir est sans doute inférieur à celui encouru par les États-Unis.

Véhicules

Différents véhicules peuvent favoriser la transmission indirecte du virus SRRP entre les hôtes infectés et susceptibles agissant à titre de vecteur mécanique. Leur efficacité à transmettre l'infection aux porcs susceptibles dépendra donc à la fois du type de supports impliqués et de la résistance du virus relative aux conditions environnementales. Également, le potentiel de dispersion spatiale de chaque véhicule sera intrinsèquement lié à son habileté à se déplacer de façon autonome (véhicule vivant) ou inversement à nécessiter le déplacement des humains afin d'exercer leur rôle (véhicule inanimé). La présente section discute d'abord brièvement de généralités concernant la survie du virus pour ensuite poursuivre avec les différents véhicules environnementaux et leur potentiel respectif à initier une transmission au sein des porcs susceptibles.

Survie du virus

Le virus est relativement labile, étant inactivé en 2 j à 37°C et en 45 minutes à 56°C (Benfield *et al.*, 1992b; Benfield *et al.*, 1994). Le virus a été isolé dans 47, 14 et 7% des tissus conservés respectivement 24, 48 et 72 heures suivant la nécropsie à 25°C (Van Alstine *et al.*, 1993). La réfrigération (4°C) résulte en des taux d'isolement égaux ou supérieurs à 85% après 72 heures de conservation (Van Alstine *et al.*, 1993). Le virus est particulièrement stable à des

températures froides telles que -70°C et -20°C (Bloemraad *et al.*, 1994). La température influence davantage la demi-vie du virus que l'humidité relative (Hermann *et al.*, 2007). La demi-vie dans les aérosols est accrue à basse température et/ou basse humidité relative étant de 4 minutes à 4°C et à 73% d'humidité relative, mais de 3 heures à 5°C et à 17% d'humidité relative (Hermann *et al.*, 2007). Par un modèle mathématique, une demi-vie d'environ 30 et 60 minutes a été estimée à 20°C si l'humidité relative variait respectivement entre 90 et 10% (Hermann *et al.*, 2007). Le virus est également sensible aux pH très acides ou alcalins; son pouvoir infectieux étant réduit de 90% à des pH <5 ou >7 (Benfield *et al.*, 1992b; Bloemraad *et al.*, 1994). En culture cellulaire à 37°C , la demi-vie est de 3 heures à un pH de 7.5, mais de 6.5 heures à un pH de 6 et diminue avec toute augmentation ou diminution rapide du pH (Bloemraad *et al.*, 1994). Les désinfectants ou solvants lipidiques endommagent également son enveloppe lipidique, le rendant instable et peu infectieux (Benfield *et al.*, 1992b; Snidjer et Meulenberg, 2001). Ainsi, il est particulièrement vulnérable aux désinfectants composés d'ammonium quaternaire et de glutaraldéhyde, mais également à d'autres désinfectants (Dee *et al.*, 2004b; Dee *et al.*, 2005b).

Véhicules vivants

Insectes

La mouche domestique *Musca domestica* et le moustique *Aedes vexans* sont les principaux arthropodes dont le potentiel de véhicule a été évalué en regard du SRRP. *Musca domestica* est un insecte non hématophage de 4-7.5 mm dont les pièces buccales permettent d'ingérer du liquide, mais également certains solides liquéfiés au moyen de régurgitation, à partir du fumier, de sang ou sérum, de salive, de mucus, de sécrétions lacrymales pouvant être trouvés en abondance à proximité des élevages (Parker, 1916; Ebeling, 1975). En effet, en plaçant 38 trappes à l'intérieur et à l'extérieur d'un bâtiment porcin pendant 15 j en saison estivale, plus de 130 000 mouches domestiques, d'étable et autres espèces ont été recueillies (Schurrer *et al.*, 2004). La mouche domestique adulte vit 15-25 j et pond 5-6 groupes de 75-150 œufs chaque et seul 8 jours sont nécessaires afin de compléter le cycle: œuf, larve, puppe et adulte (Ebeling, 1975). *Aedes vexans* est quant à lui un moustique brun hématophage de grosseur moyenne et probablement le moustique le plus répandu aux États-Unis (Ebeling, 1975; Otake *et al.*, 2002d) ayant également un fort potentiel de reproduction. Leur abondance fait donc de ces insectes des véhicules fort importants à considérer.

Concernant les mouches, le virus SRRP a été détecté au sein de celles-ci après qu'elles se soient alimentées sur du sang, des sécrétions nasales ou oropharyngées provenant de porcs expérimentalement infectés (Schurrer *et al.*, 2005). De plus, le virus prélevé du tractus intestinal des mouches a été trouvé infectieux par bio-essai, 0 et 12 heures après avoir pris leur repas sur un porc infecté (Otake *et al.*, 2003a). Dans des conditions de terrain contrôlées, le pourcentage de mouches positives au virus et la charge virale par mouche diminuaient dans le temps, mais du virus infectieux a été trouvé dans les mouches 48 heures après l'exposition (Schurrer *et al.*, 2005). Des études soutiennent le potentiel de transmission mécanique de la mouche domestique aux porcs susceptibles au sein d'un même élevage. En effet, la transmission mécanique d'une seule mouche se nourrissant sur un porc susceptible pendant 60 secondes s'est effectuée dans 2 des 10 réplifications (Otake *et al.*, 2004). Elle s'est également produite entre deux bâtiments porcins de type commerciaux distants de 120 m pour 2 des 7 réplifications (Pitkin *et al.*, 2009c). Dans cette étude, la transmission par les aérosols, les salopettes, bottes et gants du personnel ou quelconque équipement a pu être exclue (Pitkin *et al.*, 2009c). La transmission du virus par les mouches entre différents sites est donc possible, mais les bâtiments doivent être à proximité, car la majorité des mouches ne voyagerait pas plus de 3.2 km (Parker, 1916; Ebeling, 1975; Hedges, 1990; Iwasa *et al.*, 1999). Des mouches contenant du virus infectieux ont aussi été identifiées jusqu'à 2.3 km du bâtiment initial, mais le taux de contamination était inférieur lorsque les mouches étaient capturées à plus de 1.2 km (Schurrer *et al.*, 2004).

Les moustiques peuvent aussi véhiculer du virus infectieux après s'être nourri sur des porcs infectés (Otake *et al.*, 2001). La transmission mécanique du moustique à un porc susceptible s'est effectuée dans 2 des 4 réplifications alors que 300 moustiques qui se nourrissaient sur un porc virémique étaient ensuite remis en contact avec un porc naïf afin de terminer leur repas (Otake *et al.*, 2002d). Cependant, sur 550 moustiques collectés lors d'un épisode aigu de SRRP, seul un groupe (n=30) de moustiques sur 22 était positif par PCR et bio essai (Otake *et al.*, 2001). Le rôle du moustique en tant que vecteur biologique semble peu probable. En effet, le virus a été seulement retrouvé au niveau du tractus digestif collecté 0 h et 6 h post repas, bien que l'évaluation se soit poursuivie jusqu'à 14 j et que d'autres tissus aient été examinés (Otake *et al.*, 2003b). De plus, la transmission à un porc susceptible ne s'est pas effectuée au jour 7, 10 et 14 post repas (Otake *et al.*, 2003b). Bien que la transmission entre bâtiments ne soit pas documentée, les moustiques auraient également la capacité à voyager sur de longues distances

(2.5-10 km) et même davantage si retrouvés à l'intérieur des camions ou autres véhicules de transport (Clements, 1999; Otake *et al.*, 2002d; Otake *et al.*, 2003a; Otake *et al.*, 2004).

Oiseaux

La sauvagine pourrait constituer un réservoir important en raison de leur nature migratoire et également de leur tendance à nidifier près des lagunes (Cho et Dee, 2006). Ainsi, la susceptibilité au virus SRRP suite à l'ingestion d'eau contaminée a été investiguée pour le canard colvert et de Barbarie, la pintade et un croisement de volaille. Alors que l'absence d'excrétion fécale a été notée chez les canards de Barbarie, les trois autres espèces démontraient de l'excrétion fécale 5 j PI, et même jusqu'à 25 j PI pour les canards colvert (Zimmerman *et al.*, 1997a). Du virus a également été isolé du contenu intestinal 38 j PI (Zimmerman *et al.*, 1997a). L'infection a pu être transmise des canards colverts aux porcs susceptibles, soutenant donc leur potentiel de vecteur biologique (Zimmerman *et al.*, 1997a). D'autres chercheurs ont par contre obtenu des résultats divergents. Lorsque deux canards inoculés par voie orale ont été placés dans une cage au-dessus de porcelets susceptibles pour 14 jours, ceux-ci ne se sont pas infectés (Trincado *et al.*, 2004b). De plus, la mise en contact pendant 21 jours de porcs infectés et de canards colverts n'a pas résulté en une infection des canards (Trincado *et al.*, 2004b). Le rôle des étourneaux et des moineaux a aussi été examiné et aucun d'entre eux ne servirait de vecteur biologique, ne permettant pas la réplication virale (Wills *et al.*, 2000). Soulignons donc que l'infection naturelle n'a jamais été mise en évidence chez l'espèce aviaire (Albina, 1997). Ils pourraient néanmoins jouer un rôle de vecteur mécanique. Au Québec, l'importance de ce véhicule serait alors discutable, les troupeaux commerciaux étant élevés en confinement total, la plupart des installations en ventilation naturelle étant munies de grilles de protection (Larochelle *et al.*, 2003) et le système de fosse étant privilégié aux lagunes.

Rongeurs et autres mammifères (non porcins)

Même si la souris (*Mus musculus*) est l'hôte naturel d'un arterivirus apparenté, les souris et les rats ne sont pas des vecteurs biologiques du virus SRRP (Plagemann et Moennig, 1992; Hooper *et al.*, 1994; Wills *et al.*, 2000). Le virus n'a pu être isolé du sérum ou de tissus de souris et rats trappés sur une période de 2 semaines dans une pouponnière atteinte de manière endémique par la maladie ou inoculés expérimentalement (Hooper *et al.*, 1994). Les ratons laveurs, les opossums, les moufettes, les chiens et les chats ont également été examinés et aucune de ces espèces ne serait apte à transmettre le virus SRRP du moins à titre de vecteur

biologique; la réplication virale n'étant pas mise en évidence (Wills *et al.*, 2000). Similairement, l'absence de signes cliniques, de lésions histologiques, d'anticorps et de virus dans les tissus a été notée suite à l'inoculation du chien de prairie (Baker *et al.*, 2007).

À ce jour, la transmission mécanique pouvant survenir par les rongeurs ou autres mammifères sauvages ou domestiques n'est pas documentée. La fréquence, le nombre et la distance de leurs déplacements conditionneraient alors leur potentiel de véhicules. Ainsi, toutes les fermes n'ont pas nécessairement un contrôle systématique des populations de rongeurs tel qu'observé pour 11% des sites en Belgique (Ribbens *et al.*, 2008). Leur abondance serait également maintenue par leur fort potentiel de reproduction, une souris pouvant générer 6-8 portées par année de 5-6 souriceaux atteignant à leur tour leur maturité sexuelle en 6-10 semaines (Corrigan, 2001). Les rongeurs pourraient également contribuer à la dispersion spatiale de l'infection. Ainsi, pour le campagnol provençal, on mentionne un domaine vital de 37 m² et une densité pouvant atteindre 400-600 individus/hectare (Le Louarn et Quéré, 2003). Pour le rat musqué, le domaine vital et la densité atteignent respectivement 65-70 m² et 50-60 individus/hectare (Le Louarn et Quéré, 2003). La distance parcourue par les rongeurs est variable selon les espèces. On mentionne qu'elle peut atteindre 1 km chez certaines espèces de souris ou de rats (Banfield, 1974).

Véhicules inanimés

La plupart des études expérimentales évaluant ce type de véhicules ont été faites en utilisant un faible nombre de répliquons, une intensité de contact ne représentant pas nécessairement les conditions de terrain ou alors un faible nombre de porcs susceptibles lorsque la transmission est évaluée. Cela dit, plusieurs véhicules inanimés peuvent servir de source infectieuse. Même si la fréquence de contamination des différents véhicules est peu connue, la fréquence de contact avec certains véhicules a été rapportée permettant une meilleure appréciation de leur importance.

Humains

Des études expérimentales ont démontré que le virus peut être présent sur les mains après contact avec des fluides contaminés tels que le sang, la salive, les sécrétions nasales ou du jus de viande (Otake *et al.*, 2002c; Cano *et al.*, 2007c). Le virus peut survivre au moins 60 minutes sur les mains, étant infectieux par bio essai (Otake *et al.*, 2002c). Après un contact direct intense d'une heure avec des porcs inoculés, de l'ARN viral a été retrouvé dans la salive et sous les

ongles de 2 personnes sur 10 immédiatement après l'exposition, sous les ongles pour 1 personne après 5 heures et sur un écouvillon nasal 48 heures après l'exposition pour 1 personne. Toutefois, la transmission mécanique de ces personnes à des porcs susceptibles par contact direct avec certains véhicules transportés par des humains n'a pu être démontrée (Amass *et al.*, 2000a). À l'inverse, Otake *et al.* (2002a), Cano *et al.* (2007c) et Pitkin *et al.* (2009a) ont réussi. Après avoir mis ses mains en contact avec de la viande de porc infectée et laissé interagir les porcs avec les mains 0, 15 et 30 minutes suivant la contamination, la transmission s'est produite à 0 et 30 minutes (Cano *et al.*, 2007c).

Bottes, survêtements et autre matériel

Tout comme sur les mains, le virus peut également survivre au moins 60 minutes sur les survêtements et les bottes (Otake *et al.*, 2002c; Pitkin *et al.*, 2009a). De l'ARN viral peut être retrouvé sur les lassos et équipements pour prendre des prises de sang ou sur des sacs de nourriture ou alors sur des contenants de transport (Dee *et al.*, 2003; Pitkin *et al.*, 2009a). Expérimentalement, la persistance du virus a été évaluée à 25-27°C sur 16 supports ou substrats inanimés (3 solides, 6 poreux et 7 liquides) retrouvés sur les fermes. Trente minutes PI, le virus a été retrouvé sur l'acier inoxydable, le plastique, la botte de caoutchouc et les copeaux de bois à 1×10^2 et sur l'alfalfa et la paille, respectivement à des doses de $1 \times 10^{2.6}$ et 1×10^3 TCID₅₀/mL. Aucun support solide ni poreux n'a permis l'isolement du virus au-delà du jour 0 (Pirtle et Beran, 1996).

Au moyen d'une séquence coordonnée d'événements répliquant le comportement des travailleurs, Dee *et al.* (2003) ont examiné le potentiel de transmission mécanique utilisant bottes, contenant et camions de transport à 10-16°C. Ainsi, un employé ayant marché sur le sol contaminé a infecté l'intérieur du camion dans 6 des 10 réplifications. De plus, suite au trajet pour se rendre à une ferme, du virus infectieux a été introduit respectivement dans l'antichambre et sur un des contenants de transport dans 2 et 1 des réplifications effectuées (Dee *et al.*, 2003). La transmission mécanique et la détection du virus sur des contenants de transport à l'entrée de la ferme lors de la même séquence d'événements s'est également produite dans 8 des 10 réplifications en conditions hivernales (<0°C) (Dee *et al.*, 2002). Quant à la transmission indirecte à des porcs susceptibles par des bottes, salopettes ou mains contaminées, elle est survenue dans 2 des 4 réplifications effectuées (Otake *et al.*, 2002c). D'autres ont plutôt tenté d'examiner le potentiel de transmission entre des populations porcines logées dans différents bâtiments suite aux actions quotidiennes liées à l'alimentation, au traitement des animaux et à

la manipulation des animaux morts. La transmission mécanique par les mains ou autres véhicules tels salopettes, bottes, sac de nourriture, lasso et équipement de prise de sang s'est effectuée dans les 7 réplifications d'une durée de 2 semaines chacune (Pitkin *et al.*, 2009a).

Le potentiel des derniers véhicules énumérés ci-haut dans la transmission du virus entre fermes est d'autant plus important considérant la fréquence des contacts indirects. Ainsi, on rapporte une fréquence moyenne mensuelle de contacts indirects impliquant le personnel, des visiteurs ou des véhicules de 98 (36-160) et de 870 (375-1240) respectivement pour les producteurs de <2000 porcs (n=12) et de ≥2000 porcs (n=5) (Bates *et al.*, 2001). Parmi les entreprises de grande taille, les 870 contacts se répartissaient parmi les employés (86.2%), autres personnes (1.5%), amis (0.2%), vétérinaires (0.06%) et autres contacts liés aux véhicules de transport (Bates *et al.*, 2001). Une deuxième étude mentionne que 38, 39 et 23% des sites respectivement ont 1, 2 ou 3 employés (incluant les membres de la famille) (Boklund *et al.*, 2004), alors que d'autres observent que les gens travaillant sur la ferme peuvent avoir d'autres activités reliées au secteur porcin (Costard *et al.*, 2009). Ces derniers faits combinés accentuent l'importance à accorder aux différents véhicules manipulés par les employés. Également, plusieurs types de visiteurs doivent être considérés (Costard *et al.*, 2009). Au Danemark, 57% des troupeaux de truies et 34% des engraissements rapportaient >10 visiteurs/année (Boklund *et al.*, 2003; Boklund *et al.*, 2004). En Belgique, sur 421 productions enquêtées, les gens rapportaient une fréquence médiane de 2 visiteurs professionnels/mois; le vétérinaire étant le visiteur le plus fréquent avec une entrée mensuelle (Ribbens *et al.*, 2009). Il est également mentionné que certains professionnels tels que le vétérinaire peuvent visiter en moyenne 5 et 4 bâtiments ou fermes/j pouvant accentuer le potentiel de transmission mécanique entre fermes (Bates *et al.*, 2001).

Camions

La transmission du virus par contact direct avec des véhicules motorisés contaminés a été démontrée expérimentalement. Utilisant un modèle réduit, des porcelets naïfs se sont infectés suite à un contact de deux heures avec l'intérieur d'une remorque directement inoculée ou contaminée par des porcs préalablement inoculés (Dee *et al.*, 2004c). Des résultats similaires ont été obtenus en utilisant une remorque de taille conventionnelle et une période de contact de 4 heures, l'infection des porcelets se produisant dans 3 des 5 réplifications effectuées (Dee *et al.*, 2007). De plus, suite à la mise en place d'un échantillon de sol contaminé sous l'essieu d'un camion à 10 à 16°C, le virus a été prélevé sur le sol de la station de lavage après avoir parcouru

50 km et avoir été lavé dans 9 réplifications sur 10 (Dee *et al.*, 2003). Des résultats semblables ont d'ailleurs été obtenus en conditions hivernales ($<0^{\circ}\text{C}$) (Dee *et al.*, 2002). Les véhicules motorisés pourraient donc également contaminer les sites de production par leurs roues contaminées.

La fréquence des contacts avec les véhicules du personnel, du service technique, des visiteurs ou les camions de transport d'animaux a déjà été couverte précédemment. Par contre, d'autres types de véhicules tels que ceux reliés à l'alimentation, à la vidange ou l'épandage du lisier et à la récupération des carcasses sont également importants à considérer. Certains, tels que les équarisseurs, pourraient représenter un plus haut risque comparativement à d'autres (Ribbens *et al.*, 2009). La fréquence et le nombre de sites visités par jour pourraient également contribuer au risque, variant selon les types de transport. Dans une étude effectuée sur 116 engraissements au Danemark, 64% des sites rapportent ≥ 2 livraisons de moulée/mois (Boklund *et al.*, 2004). De même, considérant plusieurs types d'ongulés, différents véhicules reliés à la production animale visitaient 3.5 (2.2-4.8) fermes/j alors que le camion de récupération pouvait visiter 19.7 (11.9-27.5) fermes/j (Bates *et al.*, 2001). Ces véhicules pourraient également favoriser la dispersion spatiale de l'infection. En effet, le rayon moyen incluant 95% des fermes visitées dans une période typique de 3 j par certains camions reliés à l'industrie et de camions de récupération se chiffrait respectivement à 105 km et 51 km (Bates *et al.*, 2001). De plus, les distances parcourues sur une période de 3 j par ces deux types de véhicules se situant au 95^e percentile étaient respectivement de 210 et de 102 km (Bates *et al.*, 2001).

Aérosols

Les trois prémices nécessaires au succès de cette voie de transmission sont 1) l'excrétion du virus par des porcs infectés 2) l'obtention d'une stabilité et concentration critique au sein des aérosols et 3) le contact avec une dose virale suffisante pour initier l'infection (Stärk, 1999; Stärk, 2000; Hermann *et al.*, 2007). Plusieurs études démontrent que le virus peut être excrété par des porcs infectés. Le virus a été détecté des aérosols provenant de 17 à 50% des porcs de 2 mois au jour 5 et 9-21 PI, démontrant que la proportion de porcs excréant dans les aérosols est variable dans le temps (Cho *et al.*, 2006). Chez les porcs en croissance, la virulence de la souche inoculée augmentait la probabilité qu'il y ait excrétion dans les aérosols (RC: 3.22), sans que l'âge ni la présence de co-infections aient d'effet significatif (Cho *et al.*, 2006). De même, la quantité de virus excrété variait entre 0.02 et 266 TCID₅₀/mL, la majorité ayant une

concentration inférieure à 0.5 TCID₅₀/mL (Cho *et al.*, 2006). Suite à l'inoculation de 100 porcs, 55 (29%) des 191 échantillons d'aérosols prélevés contenaient du virus, la concentration moyenne étant de 1.2X10³, mais variant entre 1.0X10¹ et 3.0X10⁵ TCID₅₀/mL (Pitkin *et al.*, 2009b). Ni l'âge, la présence de coinfection ou la souche influence la concentration moyenne de virus dans les aérosols (Cho *et al.*, 2006). Le virus peut donc être retrouvé dans l'air en quantité suffisante pour induire l'infection, la dose minimale requise pour l'infection par voie intra-nasale étant ≤10 particules virales (Yoon *et al.*, 1999).

Comme mentionné précédemment, la température et le niveau d'humidité ont un effet significatif sur la demi-vie du virus dans les aérosols (Hermann *et al.*, 2007). Sur le terrain, d'autres caractéristiques ont été reliées à la présence du virus dans l'air prélevé telles que la direction des vents ou la présence de vents dominants en provenance d'élevages infectés, une augmentation de la pression barométrique et de l'humidité relative, des vents de basse vélocité avec présence de rafales sporadiques (Dee *et al.*, 2009; Pitkin *et al.*, 2009b), sans toutefois identifier d'association avec l'intensité de l'ensoleillement et les précipitations au sein de modèles multivariés. Une autre étude a d'ailleurs obtenu des résultats similaires (Dee *et al.*, 2010b).

Plusieurs études expérimentales démontrent que la transmission par voie aérosole peut survenir sur des distances allant jusqu'à 1 m (Torremorell *et al.*, 1997; Brockmeier et Lager, 2002; Kristensen *et al.*, 2004). Kristensen *et al.* (2004) démontrent également l'existence de cette voie de transmission en ne transférant qu'une fraction de l'air entre deux unités séparées d'un mètre; entre 94 et 100% de porcs s'infectaient au cours des 28 à 35 jours d'observation. En 2005, une première étude isole le virus à même les aérosols expérimentalement produits sur des distances allant jusqu'à 150 m pour 2 des 5 répliques effectuées (Dee *et al.*, 2005d). La concentration virale en log diminuait alors de 50% à chaque 33 m (Dee *et al.*, 2005d). Toutefois, la transmission par voie aérosole ne se produit pas nécessairement. Ainsi, suite à 3 j d'observation, des porcelets sentinelles placés dans des remorques situées à 1 m ou 30 m des sorties d'air d'un bâtiment contenant un nombre important de porcs inoculés n'ont pas été infectés (Otake *et al.*, 2002b). D'autres études similaires ont corroboré ces derniers résultats (Trincado *et al.*, 2004a; Fano *et al.*, 2005). Néanmoins, en utilisant de larges populations infectées (100 porcs inoculés sur 300) plus représentatives des conditions commerciales, la transmission par voie aérosole est survenue entre deux bâtiments distancés de 120 m dans 8

des 26 réplifications effectuées sur une période d'un an (Pitkin *et al.*, 2009b). La virulence de la souche semble associée au taux de transmission par voie aérosole, celle-ci survenant dans 4 et 0 des 10 réplifications effectuées respectivement avec la souche hautement et faiblement virulente (Cho *et al.*, 2007).

La dispersion spatiale du virus dans les aérosols a été étudiée à 1.7, 2.6, 3.3 ou 4.7 km d'une population source contenant 300 porcs en croissance. Alors que 34% des 50 échantillons prélevés aux sorties d'air de la population source étaient positifs par RT-PCR et contenaient en moyenne 3.9×10^5 TCID₅₀/mL, seul 1.3% des 306 échantillons prélevés sur le terrain étaient infectieux par bio-essai, les concentrations variant de 3.0×10^1 à 7.8×10^2 TCID₅₀/mL (Dec *et al.*, 2009). Ces derniers échantillons provenaient tous du site situé à 4.7 km. Plus récemment, une étude similaire, mais où trois souches différentes ont été inoculées à la population source, documente la présence de virus infectieux d'une seule souche sur des distances encore plus longues soit à 2.3, 4.6, 6.6 et 9.1 km de la population source et à des titres de 1.7×10^3 TCID₅₀/mL à 2.3 km et de 4.2×10^1 TCID₅₀/mL à 9.1 km (Otake *et al.*, 2010).

Aiguilles

D'autres véhicules pourraient également faciliter la transmission mécanique du virus aux porcs susceptibles tels que les aiguilles contaminées (Otake *et al.*, 2002a) ou d'autres équipements nécessaires à certaines procédures particulières telles que le tatouage, la mise en place d'identification plastique et le brûleur ou coupe-queue. Expérimentalement, l'infection des porcs susceptibles est survenue suite à l'utilisation d'aiguilles ayant servi à vacciner un deuxième groupe de porcs (Otake *et al.*, 2002a; Baker *et al.*, 2010).

Viande de porc

Bloemraad *et al.* (1994) ont été les premiers à rapporter la présence du virus dans le muscle des animaux virémiques à une faible dose, la concentration n'étant que peu affectée par un entreposage de 48 heures à 4°C. Après infection expérimentale, le virus peut s'y retrouver à des titres variant entre 3.1×10^4 à 5.9×10^5 copies d'ARN/g de muscle (Cano *et al.*, 2007c), mais dans des proportions variables de tissus musculaires échantillonnés (van der Linden *et al.*, 2003). Dans une autre étude, 13/89 animaux inoculés et euthanasiés 28 à 202 j PI étaient positifs par RT-PCR, la proportion d'animaux positifs étant plus faible avec le temps écoulé depuis l'inoculation (Molina *et al.*, 2009). Les premières études visant à identifier le virus par RT-PCR dans la viande commerciale préparée ou alors au sein des carcasses en abattoir ont

donné des résultats PCR négatifs (Larochelle et Magar, 1997; Wang, 1999). Plus récemment, au sein des 1027 échantillons de muscle prélevés en abattoir, seul 19 (1.9%) étaient positifs par RT-PCR et 1 seul en isolement viral (Larochelle et Magar et al. 2004). Plusieurs chercheurs ont démontré la transmission par voie orale suite à l'ingestion de viande de porc contaminée (van der Linden *et al.*, 2003; Magar et Larochelle, 2004), exception faite de l'équipe de Molina et al. (2009). On a observé le succès de cette voie dans 63% des 11 essais effectués (Magar et Larochelle, 2004). Considérant que le virus est présent dans le muscle chez une faible proportion de sujets infectés, qu'il est infectieux dans une proportion encore plus négligeable, que l'administration de déchets de table soit formellement interdite et que la transmission par voie orale ne soit pas garantie, ce véhicule est relativement peu important pour les pays infectés de manière endémique. Néanmoins, l'importation de viande contaminée peut représenter un risque notable pour l'introduction du virus au sein des pays exempts (Neumann *et al.*, 2007).

Eau de boisson

Dans une expérience visant à évaluer la survie du virus sur des matières non vivantes sur une période de 11 j à une température de 25-27°C, le virus a pu être isolé jusqu'au jour 11 dans l'eau de ville, au jour 9 dans l'eau de puits et au jour 4 et 6 dans le cas de deux solutions tampon (Pirtle et Beran, 1996). Toutefois, aucun article soutenant la transmission mécanique de l'agent par ce véhicule ni la transmission à de porcs susceptibles n'a pu être répertorié.

Facteurs de risque pour la transmission

Un certain nombre d'études quantitatives de facteurs de risque pour l'introduction de l'infection dans un troupeau ont été effectuées (Le Potier *et al.*, 1997; Mousing *et al.*, 1997; Weigel *et al.*, 2000; Mortensen *et al.*, 2002; Evans *et al.*, 2008; Holtkamp *et al.*, 2010a; Holtkamp *et al.*, 2010b). Certaines études phylogénétiques ont également contribué aux connaissances épidémiologiques (Goldberg *et al.*, 2000a; Goldberg *et al.*, 2000b; Batista *et al.*, 2003b; Larochelle *et al.*, 2003; Mondaca-Fernandez *et al.*, 2006; Pesente *et al.*, 2006). Somme toute, l'introduction de porcs ou de semence infectés est reconnue comme un facteur de risque prédominant impliquant la voie de transmission horizontale directe. Par le transport, ce facteur de risque peut également contribuer à la dispersion spatiale de l'infection. D'autres voies de transmission agissent davantage à une échelle beaucoup plus locale, et sont responsables de la propagation régionale ou locale de l'infection. Ces voies de transmission sont alors mises en évidence par des facteurs de risque reliés aux caractéristiques de voisinage. Cette section de la

recension des écrits vise donc à discuter des différents facteurs de risque rapportés dans la littérature.

Introduction de porcs

Des évidences circonstanciées ont d'abord mis en évidence l'importance de l'introduction de porcs infectés comme facteur de risque. Dès 1992 en Grande-Bretagne, un rapport épidémiologique signalait que la principale route d'introduction du virus consistait en l'achat de femelles reproductrices infectées (Edwards *et al.*, 1992). De même, après l'introduction de l'infection aux Pays-Bas, on associait la transmission rapide entre les fermes aux mouvements de porcs infectieux (Nodelijk *et al.*, 2003). Un descriptif des liens épidémiologiques rapportés entre quelques fermes infectées lors de l'introduction du virus en Suède mentionne également le rôle potentiel du transport de porcelets vivants d'un site infecté à un autre (Carlsson *et al.*, 2009).

Certaines études quantitatives ont appuyé ces dernières évidences. Ainsi, dans une étude cas-contrôle effectuée au Danemark en 1994 sur 183 sites, l'achat de porcs de 25 kg était positivement associé à la séropositivité au SRRP des porcs à l'engrais (RC: 2.3) (Mousing *et al.*, 1997). Dans un second modèle incluant 108 troupeaux reproducteurs, l'achat de cochettes de remplacement ou de verrats provenant de troupeaux positifs était également associé à la séropositivité (RC: 3.0) (Mousing *et al.*, 1997). En 1996-1997, une deuxième étude cas-contrôle (cas: 73, contrôle: 146) a révélé que l'achat d'animaux de remplacement provenant de fournisseur positif sans utiliser de quarantaine avait un impact sur la probabilité de devenir séropositif à la souche vaccinale vivante atténuée qui était alors nouvellement en circulation sur le territoire danois, les ratios de risque étant de 7.4 et 6.5 dans deux modèles différents (Mortensen *et al.*, 2002). La probabilité de survie d'un troupeau SRRP négatif de 100 HPU était alors rapidement affectée par l'achat de cochettes provenant d'un fournisseur positif, passant de 100 à 90% en 2.5 mois et à <65% en 10 mois (Mortensen *et al.*, 2002). Une étude américaine indique également une augmentation du risque d'obtenir un diagnostic positif au virus SRRP lors de l'achat de cochettes sans effectuer de période d'isolement avant leur entrée dans le troupeau (OR: 3.3) (Weigel *et al.*, 2000). En 1993, suite à la mise en place d'un programme de contrôle régional du SRRP dans la région du Pays de la Loire en France, la source de l'infection était alors retracée pour chaque troupeau nouvellement identifié séropositif (Le Potier *et al.*, 1997). Pour 56% des 118 fermes infectées sur une période

d'environ 2.5 ans, on attribuait la source d'infection à l'introduction de cochettes ou de porcelets infectés. Toutefois, ce facteur de risque n'a pas été identifié dans deux autres études observationnelles plus récentes (Evans *et al.*, 2008; Holtkamp *et al.*, 2010a).

Des études phylogénétiques soutiennent également l'introduction d'animaux infectés comme facteur de risque pour la transmission du virus entre les sites de production (Goldberg *et al.*, 2000a; Batista *et al.*, 2003b; Larochelle *et al.*, 2003; Pesente *et al.*, 2006). Plus de 180 séquences virales recueillies au Québec entre 1998 et 2002 ont été regroupées sur la base de leur homologie afin de rechercher les principaux liens épidémiologiques entre les souches appartenant à un même groupement (Larochelle *et al.*, 2003). L'introduction de porcelets et d'animaux de remplacement était un lien prépondérant rapporté entre les souches. Une étude italienne mentionne également que le mouvement de porcs des troupeaux naisseurs vers la pouponnière et de la pouponnière vers l'engraissement était la principale voie de transmission de l'infection au sein d'un système de production intégrée (Pesente *et al.*, 2006). Finalement, au Mexique, alors que l'utilisation de la vaccination commerciale n'était pas autorisée, il a été suggéré que l'importation d'animaux ou de semence aurait probablement été la cause de l'introduction de la souche vaccinale dans certaines fermes (Batista *et al.*, 2003b).

Introduction de semence

Plusieurs rapports de cas font mention d'un lien épidémiologique entre les fermes infectées et un ou des centres d'insémination (Edwards *et al.*, 1992; Robertson, 1992). Une autre étude de cas documente également la semence fraîche comme source d'infection d'un élevage naisseur-finiisseur, la semence étant le seul matériel porcin introduit et le plus proche voisin étant localisé à >3 km (Yaeger *et al.*, 1993).

Dans une étude de facteurs de risque effectuée aux États-Unis, une augmentation du risque d'un diagnostic positif au virus SRRP était associée au fait d'acheter de la semence provenant d'un centre d'insémination (RC: 2.2) (Weigel *et al.*, 2000). L'utilisation de semence provenant de centres d'insémination où la vaccination commerciale était pratiquée augmentait également la probabilité de devenir positif au virus SRRP (RC: 1.3) dans une étude cas-contrôle réalisée au Danemark (Mortensen *et al.*, 2002). D'autres études n'ont pas mis ce risque en évidence (Mousing *et al.*, 1997; Evans *et al.*, 2008). Aucune association n'a été détectée entre la séropositivité des troupeaux et l'approvisionnement de semence provenant de centres

d'insémination SRRP positifs ou avec le nombre de doses de semence introduites sur 6 mois (Mousing *et al.*, 1997).

Contact avec véhicules inanimés

Outre quelques rapports de cas d'infections ponctuelles (Reicks, 2009; Dee *et al.*, 2010c), peu d'études quantitatives documentent le risque associé à la transmission indirecte par des véhicules inanimés spécifiques. Lors d'une enquête épidémiologique effectuée sur 118 troupeaux s'étant infectés dans une région de la France, les véhicules inanimés et lisier étaient mentionnés comme source d'infection dans 21% des cas (Le Potier *et al.*, 1997). L'épidémiologie moléculaire a également mis en lumière l'importance des véhicules inanimés (Larochelle *et al.*, 2003). Au Québec, parmi les liens épidémiologiques entre les souches évaluées, un peu plus de 25% pouvaient être attribués à des véhicules inanimés communs, à des souches provenant de bâtiments situés sur le même site de production ou appartenant au même producteur ou à la même organisation sans toutefois avoir la même source d'animaux (Larochelle *et al.*, 2003). Ceci suggère alors l'implication potentielle de différents véhicules inanimés transportés par des employés ou services techniques communs. Dans cette même étude, 14 souches étaient rapportées similaires pour des fermes localisées entre 10 et 30 km, sans qu'une source commune d'animaux, ni l'utilisation de semence infectée ne puisse être identifiée, accentuant les évidences du rôle des camions de transport, entre autres, dans la dispersion spatiale de l'infection (Larochelle *et al.*, 2003). Un cas d'infection ponctuelle liée au transport de porcelets naïfs véhiculés dans un camion n'ayant pas été lavé ni désinfecté a été identifié, le transporteur ayant chargé au préalable des animaux infectés sur un premier site a eu accès à l'aire de chargement d'un troupeau naïf (Larochelle *et al.*, 2003). Lors de l'introduction du virus en Suède, une étude descriptive mentionnait également le partage d'équipement, un transporteur commun ainsi qu'une personne travaillant sur deux sites de production (Carlsson *et al.*, 2009).

Certaines études observationnelles ont plutôt remarqué un effet de certaines mesures de biosécurité spécifiques sur le statut SRRP, suggérant ainsi certaines voies de transmission. Récemment, une étude effectuée sur des troupeaux américains a mis en évidence des associations significatives entre le temps demeuré SRRP négatif et les mesures de biosécurité se rapportant autant au transport qu'à l'entrée des visiteurs: le lavage des camions suivis du séchage assisté, le type d'aire de chargement, les procédures sanitaires pour les employés et

visiteurs entrant sur le site, la présence de formation sur la biosécurité donnée périodiquement aux employés ainsi que les restrictions d'accès au site des employés (Holtkamp *et al.*, 2010a). Ces mêmes auteurs ont également évalué l'effet relié à l'absence combinée de plusieurs mesures de biosécurité. Le ratio de risque associé à une faible biosécurité externe et calculé au sein d'un modèle de survie de 33 troupeaux reproducteurs SRRP négatifs était de 9.4. La moitié des troupeaux ayant une meilleure biosécurité étaient toujours négatifs après un an alors qu'aucun troupeau ayant une biosécurité plus faible ne dépassait ce seuil. Une survie médiane de 13 et 107 semaines était obtenue pour ceux ayant une faible et haute biosécurité (Holtkamp *et al.*, 2010b). D'autres études observationnelles n'ont pas identifié d'association avec le statut SRRP des sites. Au Danemark, aucune association n'a pu être observée avec une variable dichotomique représentant un niveau de biosécurité; tenant compte à la fois de la présence d'un emplacement désigné au changement de bottes et de salopettes, de l'absence d'accès direct des camions ou véhicules et des camionneurs au troupeau lors du transport des porcelets ou porcs à l'engrais (Mortensen *et al.*, 2002). Dans une étude transversale en Grande-Bretagne, aucune des mesures suivantes n'était associée au statut sérologique des 103 fermes: port de vêtement de protection par les employés, présence et durée d'une période de retrait, pédiluve, stationnement sur ou hors site, présence d'un rotoluve (Evans *et al.*, 2008).

Aérosols

Des essais en conditions de terrain contrôlées ont démontré que le contact avec des aérosols infectés peut représenter un facteur de risque pour l'introduction du virus au sein d'un troupeau. En effet, en respectant une bonne biosécurité relative à l'entrée du personnel, la transmission par aérosols entre deux bâtiments situés à <120 m s'est produite dans 0 et 8 des 26 réplifications de 2 semaines effectuées respectivement dans des bâtiments filtré et non filtré (Pitkin *et al.*, 2009b). Le risque quotidien d'infection calculé sur 361 jours d'observation pour un bâtiment était de 2.8 et 0% respectivement pour un bâtiment filtré et non filtré (Pitkin *et al.*, 2009b). Utilisant le même type d'essai, l'efficacité a également été démontrée dans le cadre d'un projet de 4 ans où comparativement au non filtré, le bâtiment filtré ne s'est jamais contaminé (Pitkin *et al.*, 2010).

Récemment, des résultats obtenus sur des troupeaux commerciaux ayant adopté la filtration d'air ont été publiés. Suite à un suivi d'un an de fermes américaines situées dans une région de haute densité porcine, aucun épisode n'est survenu dans les 2 fermes filtrées, alors que les 5

non filtrées ont expérimenté des éclosions de SRRP attribuables à des souches hétérologues (Dee *et al.*, 2010a). Ces observations sont corroborées par une étude similaire ayant suivi 11 troupeaux filtrés et 26 non filtrés pendant 2 ans; 18 et 92% des troupeaux sous air filtré et non filtré subissant une ou plusieurs crises (Dee *et al.*, 2010c). Il y avait 7 fois plus d'épisodes causés par des souches hétérologues dans les bâtiments non filtrés comparativement à ceux filtrés (1.4 vs. 0.2 cas/ferme), une différence significative.

Taille de l'inventaire porcin

La mesure HPU «Unités productrices de chaleur», 1HPU=1000 watts à 20°C, estime les pertes de chaleur et donc des besoins en ventilation et a été utilisée dans plusieurs études de facteurs de risque pour des pathogènes respiratoires porcins dont le SRRP (Christensen *et al.*, 1990; Flori *et al.*, 1995; Mousing *et al.*, 1997; Mortensen *et al.*, 2002). Elle permet de considérer les différents stades de production et leur importance relative au sein d'un élevage porcin (Gardner *et al.*, 2002). Dans une étude cas-contrôle effectuée sur 219 troupeaux danois, la séropositivité des troupeaux de truies au virus SRRP était associée positivement à la taille du troupeau dans deux modèles différents (ratio de risque 1.7, 2.0) (Mortensen *et al.*, 2002). Tel que rapporté pour plusieurs autres maladies infectieuses (Willeberg *et al.*, 1994), le risque d'infection double lorsque la taille de troupeau double, jusqu'à l'atteinte d'un seuil de 250 HPU. Ainsi, le risque d'infection d'un troupeau de 250 HPU (équivalent à 550 truies) était 2.6 fois plus élevé que celui abritant 100 HPU (220 truies) (Mortensen *et al.*, 2002). Dans une étude rétrospective américaine utilisant une banque de sérum de 1992, les troupeaux ayant un nombre plus élevé de truies avaient un risque plus élevé d'être diagnostiqués positifs au virus SRRP (Weigel *et al.*, 2000). Également, sur 103 troupeaux en Grande-Bretagne, une association significative entre le statut sérologique positif et une grande taille de troupeau a été observée (Evans *et al.*, 2008). Au même titre, un effet de taille du troupeau reproducteur et de la moyenne des parités du troupeau reproducteur a été observé sur la survie des 180 troupeaux américains négatifs au SRRP évalués (Holtkamp *et al.*, 2010a). Par contre, d'autres chercheurs n'ont pu mettre en évidence ce facteur de risque (Mousing *et al.*, 1997; Lopez-Soria *et al.*, 2010).

L'association entre la taille de troupeau et le statut SRRP pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs. Le nombre de contacts directs et indirects avec les sources externes d'infection est à risque d'augmenter avec la taille de troupeau (Bates *et al.*, 2001; Gardner *et al.*, 2002). Le risque d'introduire l'infection par une seule cochette de remplacement infectée en l'absence de test diagnostic est de $P=1-(1-p)^n$ où n est le nombre de cochettes introduites et p la prévalence de

l'infection dans la population source. Ainsi, des troupeaux de 500 et 100 truies remplaçant 20% des femelles annuellement ont une probabilité respective de 0.64 et de 0.18 d'introduire l'infection (Marchevsky *et al.*, 1989; Gardner *et al.*, 2002). De même, les troupeaux de plus de 500 porcs à l'engrais achètent un plus grand nombre de porcelets en un plus grand nombre de lots que ceux ayant moins de 500 porcs (Boklund *et al.*, 2004). Les contacts indirects tels que ceux générés par l'entrée de visiteurs, mais également par la visite de véhicules reliés à l'industrie sont également plus fréquents dans les troupeaux ayant un inventaire supérieur (Bates *et al.*, 2001). En guise d'exemple, au Danemark, on note une différence dans la proportion rapportant plus de 10 visiteurs par année soit respectivement 73 et 41% pour les troupeaux >150 et ≤150 truies (Boklund *et al.*, 2003), un phénomène similaire étant observé pour les sites de finition (Boklund *et al.*, 2004). Une autre étude documente une faible corrélation positive entre la taille de troupeau et le nombre de visiteurs professionnels ($r: 0.2$), les auteurs attribuant cette corrélation limitée à une sensibilisation accrue des troupeaux plus volumineux aux contacts indirects, les poussant à limiter le nombre de visiteurs autorisés (Ribbens *et al.*, 2009).

Caractéristiques de voisinage

Certains facteurs de risque rapportés dans la littérature tels que la proximité du site porcin avoisinant ainsi que la densité porcine ou de ferme se regroupent en termes de caractéristiques de voisinage. Les différentes voies de transmission se rattachant aux caractéristiques de voisinage peuvent rarement être distinguées et sont souvent regroupées au sein du concept de propagation régionale ou locale. Ce phénomène décrit la transmission du virus entre différents sites de production en absence de contact direct avec des porcs ou de la semence infectés, mais sans toutefois connaître précisément la ou les voies de transmission impliquées (Lager *et al.*, 2002; Batista *et al.*, 2003b; Larochelle *et al.*, 2003). Ainsi, la propagation régionale pourrait alors être attribuée aux aérosols ou à d'autres véhicules vivants ou inanimés causant une transmission horizontale indirecte.

Proximité de la ferme voisine

La proximité de la ferme porcine avoisinante est un facteur de risque pour plusieurs maladies porcines à composante respiratoire, dont le SRRP (Goodwin, 1985; Stärk *et al.*, 1992; Hurnik *et al.*, 1994a; Hurnik *et al.*, 1994b; Le Potier *et al.*, 1997; Mortensen *et al.*, 2002). Le Potier *et al.* (1997) ont observé que 45% des fermes situées dans un rayon de 500 m de fermes atteintes par

un épisode de SRRP devenaient infectées, alors que seuls 2% situées entre 1 ou 2 km le devenaient. Également, Mortensen *et al.* (2002) ont rapporté que le fait d'avoir un ou des troupeaux infectés dans un rayon de 3 km était également un facteur augmentant le risque d'infection. Inversement, une étude transversale effectuée en Grande-Bretagne en 2003-2004 a identifié qu'être situé à ≥ 3.2 km du troupeau porcin était significativement associé à la séronégativité (RC:3.4). Dans cette même investigation, aucune association significative n'a été observée entre le statut sérologique des 103 fermes et les caractéristiques du troupeau voisin soit le fait d'être une unité extérieure ou intérieure, un nucléus ou troupeau commercial, un site de finition ou non ou avec le nombre de truies présentes de l'unité voisine (Evans *et al.*, 2008).

Au sein d'études d'épidémiologie moléculaire, sur 203 différentes relations suspectées entre les souches similaires, 24 et 22 impliquaient des fermes localisées respectivement à moins de 3 km et entre 3 et 10 km, 63% de celles-ci appartenant à des élevages de propriétaires différents (Larochelle *et al.*, 2003). De plus, dans 40% des cas où la propagation régionale était suspectée, les troupeaux étaient localisés à moins de 3 km l'un de l'autre, alors que dans 37% des cas, ils étaient localisés entre 3 et 10 km (Larochelle *et al.*, 2003). La propagation régionale a également été soupçonnée en Iowa où en deux semaines, 6 sites naisseurs-finisieurs sur 7 situés entre 1 et 13 km de distance sauf une à 33 km avaient des souches similaires alors que ni une transmission directe via l'introduction de porcs ou de semence contaminés ni une transmission indirecte via le partage d'équipements, un fournisseur de moulée commun ou par la participation à des expositions d'animaux d'élevage n'a pu être mise en évidence (Lager *et al.*, 2002). Une étude documente également une corrélation positive entre les distances génétique et euclidienne des souches recueillies au Minnesota (Mondaca-Fernandez *et al.*, 2006).

Densité régionale

Une densité porcine élevée a été suggérée comme facteur de risque potentiel pour l'introduction du SRRP au sein des troupeaux (Albina, 1997), l'influence de la densité régionale animale ou de fermes ayant été documentée pour d'autres maladies à composante respiratoire telles que la pseudorage et la pneumonie enzootique (Goodwin, 1985; Stärk *et al.*, 1992; Austin *et al.*, 1993; Leontides *et al.*, 1994). Dans une étude cas-contrôle danoise, la somme de l'exposition provenant des voisins positifs situés dans un voisinage de 3 km était associée à la séropositivité des troupeaux de truies (Mortensen *et al.*, 2002). Plus récemment, dans une analyse de survie, le temps de survie de 180 troupeaux reproducteurs SRRP négatifs était

significativement associé à la densité de sites porcins dans un rayon de 1.6 à 4.8 km du site (Holtkamp *et al.*, 2010a).

L'effet de la proximité d'une ferme porcine avoisinante et de la densité régionale sous-entend certains facteurs reliés à la présence de l'industrie porcine dans le voisinage tels que des déplacements accrus liés au transport des porcs ou de la semence, mais également des visiteurs, autres camions et potentiellement de l'épandage de lisier (Madec, 2001). À titre d'exemple, 76% des mouvements observés entre fermes survenaient dans les régions denses (>300 porcs/km²) (Ribbens *et al.*, 2009) et la majorité des contacts indirects provenant des personnes reliées à l'industrie se produisent à l'intérieur de 40 km (Bates *et al.*, 2001). Dans l'industrie avicole, on observe également que les éleveurs localisés dans une région de haute densité partagent plus fréquemment de l'équipement, sont plus susceptibles d'avoir une route publique à moins de 0.4 km de leurs bâtiments et d'être situés à moins de 1.6 km d'une autre ferme (Vieira *et al.*, 2009).

Saison

La saison n'a pas été identifiée comme facteur de risque au sein d'études observationnelles. Néanmoins, on mentionne que les problèmes cliniques sont plus souvent rapportés durant la période hivernale parmi les troupeaux sérologiquement positifs à l'abattoir comparativement aux contrôles (Mousing *et al.*, 1997). De même, dans une étude d'épidémiologie moléculaire effectuée au Québec, 75% des 226 cas étaient soumis pour séquençage entre novembre et avril (Larochelle *et al.*, 2003). Cette distribution saisonnière pourrait refléter un risque augmenté d'infection, mais également de recrudescence des signes cliniques lors des saisons froides. Alors que la survie de l'agent est favorisée par la faible température (Bloemraad *et al.*, 1994), d'autres ont observé que la transmission mécanique de l'agent par certains véhicules inanimés pouvait être favorisée lors de conditions hivernales comparativement aux saisons estivales (Dee *et al.*, 2002; Dee *et al.*, 2003). La survie plus importante de l'agent dans les aérosols lors de températures froides pourrait également favoriser la transmission par cette voie durant l'hiver (Hermann *et al.*, 2007). Inversement, certaines voies de transmission indirecte dépendante de vecteurs vivants seraient favorisées à l'été telles que la transmission via les insectes ou les oiseaux (Zimmerman *et al.*, 1997a; Pitkin *et al.*, 2009c).

Prévention

La prévention de l'introduction du virus SRRP dans un troupeau passe par la biosécurité. L'étymologie grecque du mot biosécurité proviendrait de «Bios» signifiant vie et de «sécurité» représentant une situation de risque minimal ou alors pour l'individu ou un groupe, le sentiment (bien ou mal fondé) d'être protégé de tout danger et risque (Wikipédia, 2003). L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture définit la biosécurité comme une approche stratégique et intégrée visant à analyser et à gérer les risques pesant sur la vie et la santé des personnes, des animaux, des plantes et de l'environnement (Food and Agriculture Organization of United Nations, 2007). D'autres définitions ont été proposées, se rapportant davantage à la production animale (Gunn *et al.*, 2008) ou distinguant la biosécurité en fonction des objectifs attendus. Ainsi, la biosécurité externe ou la bio-exclusion peut être définie comme l'ensemble des activités, mesures, pratiques ou techniques visant à prévenir l'entrée de nouveaux agents pathogènes au sein d'une population susceptible (Barrington *et al.*, 2006), soit un troupeau porcin (Amass et Clark, 1999) ou une région (Dargatz *et al.*, 2002).

La localisation du site incluant la distance, la taille et le type de production des unités voisines tout comme la densité régionale et la proximité du réseau routier sont des facteurs primordiaux à considérer (Moore, 1992; Barcelo et Marco, 1998). Même si la délocalisation d'élevages reproducteurs ou maternités commerciales de régions à haute densité vers celle de densité moindre soit rapportée (Broes, 2002), la localisation demeure non modifiable pour la plupart des sites existants (Holtkamp *et al.*, 2010a). Elle est néanmoins primordiale à considérer dans la planification de productions futures. Bien qu'aucune distance séparatrice ne soit définie à l'égard du virus SRRP, les sites devraient être localisés à l'écart des autres sites et autoroutes (Moore, 1992). La présente section vise donc à décrire les différentes mesures de biosécurité externe recommandées pour les sites existants afin de contrer la transmission selon les principales voies précédemment énoncées.

Gestion des animaux et de la semence

Contrôle du statut et de la source

Le taux élevé de remplacement, l'achat de source externe et parfois même de plusieurs sources requièrent des mesures de biosécurité particulières (Boklund *et al.*, 2003; Denicourt et Klopfenstein, 2004; Ribbens *et al.*, 2009). L'auto-renouvellement, tel qu'observé sur plus du

tiers des sites dans certaines études, représente un risque moindre que l'achat de source externe (Madec, 2001; Pinto et Urcelay, 2003; Ribbens *et al.*, 2008). Cependant, en présence d'approvisionnement externe pour les animaux de remplacement ou la semence, une seule source certifiée SRRP négative doit être privilégiée (Moore, 1992; Madec, 2001; Nilubol et Thacker, 2002; Nodelijk *et al.*, 2003; Broes et Boutin, 2004; Barrington *et al.*, 2006). Avant tout achat, l'historique et le statut sanitaire du fournisseur devraient être connus et documentés, tout comme la biosécurité et les politiques de vaccination en vigueur chez le fournisseur (Moore, 1992; Broes et Boutin, 2004; Barrington *et al.*, 2006). De plus, un contrat avec le fournisseur, tel que détenu par certains élevages (Boklund *et al.*, 2003), augmente également le potentiel de traçabilité en cas de crise sanitaire. Les mêmes règles relatives au nombre de sources et à la connaissance du statut sanitaire du troupeau d'origine prévalent pour les sites de pouponnière et de croissance-finition, les porcs devant provenir d'élevages ayant un statut supérieur à celui de l'élevage receveur (Moore, 1992), alors que les achats au sein d'encans publics ou d'enchères sont à proscrire.

Quarantaine

Une période de quarantaine pour les animaux reproducteurs à être introduits dans un troupeau est essentielle pour éviter l'introduction de plusieurs maladies dont le SRRP (Moore, 1992; Freese et Joo, 1994; Broes et Boutin, 2004; Barrington *et al.*, 2006). Le local de quarantaine doit être séparé et situé le plus loin possible du bâtiment principal et des sites voisins en tenant compte des vents dominants et ne devrait permettre aucun contact direct via le bâtiment principal (Moore, 1992; Broes et Boutin, 2004; Barrington *et al.*, 2006; Casal *et al.*, 2007). En regard du SRRP spécifiquement, une localisation hors site ou à >120 m du troupeau reproducteur a été suggérée (Dee, 1997; Pitkin *et al.*, 2009d) et récemment, on a rapporté une association positive entre l'emplacement du local d'isolement par rapport au site de production et la survie des troupeaux négatifs (Holtkamp *et al.*, 2010a). Une gestion tout-plein tout-vide (IPTV) devrait être combinée à un lavage et une désinfection entre les lots (Dee, 2003; Barrington *et al.*, 2006), ce qui n'est pas automatiquement respecté (Boklund *et al.*, 2003; Casal *et al.*, 2007). Du personnel spécifique devrait s'occuper de l'entretien, utilisant vêtements et équipements spécifiques à la quarantaine (Moore, 1992; Broes et Boutin, 2004; Barrington *et al.*, 2006).

Une durée de quarantaine d'au moins 21-30 j est conseillée afin de couvrir la période d'incubation, d'effectuer l'observation clinique et d'obtenir les résultats des tests diagnostiques

effectués (Nilubol et Thacker, 2002; Boklund *et al.*, 2003; Dee, 2003; Barrington *et al.*, 2006; Pitkin *et al.*, 2009d). En effet, des tests PCR appliqués 24-48 heures après l'entrée en quarantaine et ELISA, 5-7 j avant l'entrée dans le troupeau, devraient identifier respectivement les cochettes virémiques et exposées, celles-ci pouvant s'être contaminées peu avant ou durant le transport (Moore, 1992; Nilubol et Thacker, 2002; Batista, 2005; Pitkin *et al.*, 2009d). L'utilisation d'épreuves diagnostiques effectuées avant la sortie des cochettes du site d'isolement ou d'acclimatation est d'ailleurs positivement associée au temps durant lequel les troupeaux demeuraient négatifs au virus SRRP (Holtkamp *et al.*, 2010a).

Gestion des véhicules inanimés

Limiter l'accès

Afin de limiter l'accès, une barrière à l'entrée du site fermée en tout temps ainsi que des affiches de mises en garde et d'interdiction d'accès devraient être présentes (Moore, 1992; Conseil canadien du porc, 2004). Ainsi, en Espagne, on observe respectivement une clôture délimitant le site, une entrée demeurant fermée, un signe d'interdiction à l'entrée et un stationnement à l'extérieur de la ferme pour 78, 73, 64 et 77% des sites évalués (Casal *et al.*, 2007). Idéalement, une seule entrée verrouillée en tout temps, munie d'une sonnette et d'un système de communication et de déverrouillage à distance devrait permettre d'accéder au bâtiment principal (Moore, 1992; Broes et Boutin, 2004; Conseil canadien du porc, 2004). Seul le personnel essentiel devrait être admis sur le site et le bâtiment principal, les visiteurs devant être interdits (Broes et Boutin, 2004; Barrington *et al.*, 2006). De plus, les employés ne devraient pas avoir de contact avec des porcs de source externe ou résider sur une autre ferme porcine (Moore, 1992).

Protocole d'entrée du personnel et visiteurs

Bien que peu fréquent (Casal *et al.*, 2007), un registre comportant nom, signature, téléphone, date, but de la visite, date et nom de la dernière ferme visitée est souhaitable (Moore, 1992; Broes et Boutin, 2004). De plus, des instructions concernant le protocole d'entrée devraient être clairement visibles à l'entrée (Casal *et al.*, 2007). Cette dernière procédure serait particulièrement importante étant donnée la variabilité des protocoles d'entrée observée sur les sites porcins. Ainsi, au Danemark, parmi les mesures évaluées au sein de troupeaux de truies (changement de bottes ou salopettes, désinfection des bottes, chapeau, désinfection des mains, douche), 17, 31 et 52% des sites appliquaient respectivement aucune mesure, 1-2, ou 3-4

mesures (Boklund *et al.*, 2003). Différentes mesures relatives au protocole d'entrée sont mentionnées ci-dessous.

Période de retrait

Il s'agit d'une période sans aucun contact direct ou indirect avec des porcs (Broes et Boutin, 2004). Des enquêtes descriptives documentent cette mesure à une fréquence variant entre 7% et 56% (Boklund *et al.*, 2003; Ribbens *et al.*, 2008). Même si des périodes d'une ou deux nuits ont été proposées (Moore, 1992; Broes, 2002; Pitkin *et al.*, 2009d), cette pratique est de plus en plus contestée. En fait, la durée de 48 heures provient d'une étude sur la Fièvre aphteuse dans laquelle le virus a été isolé des cavités nasales humaines jusqu'à 28 heures PI, mais non à 48 heures (Sellers *et al.*, 1970). Des études récentes suggèrent qu'une période de plus 24 heures serait inutile pour le virus SRRP (Otake *et al.*, 2002c; Pitkin *et al.*, 2009b; Pitkin *et al.*, 2010). Le virus n'a jamais été isolé du personnel lors des 26 réplifications de 2 semaines effectuées; celui-ci devant respecter une douche et un changement de salopettes et bottes à l'entrée du bâtiment, mais pouvant visiter le bâtiment susceptible le jour suivant la visite du bâtiment infecté (Pitkin *et al.*, 2009b; Pitkin *et al.*, 2010).

Pédiluve

Utilisé sur des bottes souillées de matières fécales, des études expérimentales ont démontré que la contamination bactérienne n'était pas réduite suite à un temps de contact de 2 minutes avec le désinfectant. Pour en tirer une certaine efficacité, les bottes doivent donc être brossées (Amass *et al.*, 2000b; Amass *et al.*, 2003c). Spécifiquement pour le SRRP, l'utilisation d'un pédiluve contenant de l'hypochloride de sodium 6% durant 5 secondes pour la désinfection de bottes de plastique s'est révélée efficace, ni les bottes ni le liquide échantillonné dans le pédiluve était contaminé lors des 10 réplifications effectuées et ce, en présence ou en absence de fèces (Dee *et al.*, 2004b). Toutefois, le désinfectant était renouvelé entre chaque réplification, ce qui ne représente guère les conditions de terrain (Broes, 2002; Kelly, 2004).

Changement de bottes et de salopettes et lavage de mains

Un changement de bottes et de salopettes ainsi qu'un lavage de mains doivent être exigés à l'entrée (Moore, 1992; Conseil canadien du porc, 2004; Barrington *et al.*, 2006). Pour ce faire, des salopettes et bottes appartenant à l'élevage devraient toujours être disponibles, lavées fréquemment et devraient demeurer à l'intérieur des bâtiments (Moore, 1992). Même si le port de vêtement propre au troupeau pour les visiteurs semble fréquemment exigé (Ribbens *et al.*,

2008), d'autres chercheurs rapportent que le lavage et désinfection des mains n'est pratiqué que sur 29% des sites (Laanen *et al.*, 2010). Le changement de bottes, salopettes et le lavage de mains devraient prendre place au sein d'un espace spécialement aménagé. En effet, pour faciliter le respect des zones propre et contaminée, l'élevage devrait se munir d'une entrée danoise telle qu'observée dans les troupeaux SPF (Moore, 1992). Classiquement, ce type d'entrée est divisé en trois zones. Le personnel entrant doit d'abord retirer bottes et vêtements dans la zone contaminée. Une zone intermédiaire permet ensuite le lavage des mains ou alors la douche le cas échéant. Finalement, une zone propre sert à enfiler bottes et survêtements de l'élevage (Moore, 1992; Broes et Boutin, 2004). Certains troupeaux utilisent également la douche à l'entrée afin de respecter les principes énoncés précédemment, la fréquence variant entre 2 et 68% selon différentes études (Pinto et Urcelay, 2003; Casal *et al.*, 2007; Ribbens *et al.*, 2008).

Plusieurs études expérimentales ont tenté d'évaluer l'effet de mesures relatives au protocole d'entrée sur la transmission mécanique du SRRP. Trois protocoles soit un changement de bottes et salopettes combiné au lavage de mains par un système d'entrée danoise, combiné à une douche avec période de retrait de 12 heures ou combiné à une douche sans période de retrait ont été évalués (Otake *et al.*, 2002c). La transmission aux porcs susceptibles ne s'est pas produite dans aucun des groupes et le virus n'a pas pu être mis en évidence suite à l'écouvillonnage des mains, doigts, ongles, cheveux, narines et amygdales. L'usage de bottes jetables dans le but d'éviter la contamination des souliers du personnel et ultérieurement de l'intérieur des véhicules a également été testé (Dee *et al.*, 2004b). Alors qu'en l'absence de bottes jetables on notait la présence de virus sur les souliers, tapis et pédales du véhicule dans 10, 9 et 7 des 10 réplifications effectuées, les souliers n'ont jamais été contaminés lors du port de bottes (Dee *et al.*, 2004b).

Désinfection du matériel

Aucun équipement ne devrait provenir d'autres fermes et tout matériel devrait être lavé et désinfecté préalablement dans un espace spécialement conçu à cet effet (Moore, 1992; Pitkin *et al.*, 2009d). En 2002, la plupart des élevages commerciaux québécois n'étaient pas équipés d'un tel système (Broes, 2002) et aucune des études descriptives suivantes ne documente cette pratique (Boklund *et al.*, 2003; Pinto et Urcelay, 2003; Boklund *et al.*, 2004; Casal *et al.*, 2007; Ribbens *et al.*, 2008; Costard *et al.*, 2009). L'exposition aux rayons UV₂₅₄ pendant 10 minutes

peut également inactiver le virus sur des surfaces ou matériel retrouvés sur les fermes (Dee *et al.*, 2011). De plus, la méthode de double sac est efficace pour réduire la transmission mécanique (Dee *et al.*, 2004b; Pitkin *et al.*, 2009d). Sur 10 répliquions, tous les échantillons prélevés sur le sac de plastique et son contenu (à l'intérieur de la boîte) et les mains de la personne recevant la livraison étaient PCR négatifs, une différence significative comparativement aux échantillons positifs prélevés sur l'extérieur de la boîte (10/10) et sur les mains du livreur (8/10) (Dee *et al.*, 2004b).

Véhicules de transport

Certains véhicules tels que les camions de récupération des carcasses ne doivent pas avoir accès au site (Moore, 1992; Broes et Boutin, 2004; Pitkin *et al.*, 2009d). Or, sur 24% des 110 sites de finition évalués, le camion approchait à moins de 25 m des bâtiments (Boklund *et al.*, 2004). Par ailleurs, alors que 33% des 689 sites américains évalués ont une gestion des carcasses hors site, seuls 27% d'entre eux ont un site de collection situé à plus de 0.8 km (Holtkamp et Melody, 2010). D'autres mesures de biosécurité sont également importantes à respecter lors du transport d'animaux vivants. Le camionneur ne devrait pas entrer dans le bâtiment et le site devrait être muni d'une salle d'expédition et d'un quai de chargement (Broes et Boutin, 2004). La salle d'expédition devrait être aménagée afin que les porcs ne puissent revenir dans le bâtiment principal et devrait être lavée et désinfectée après usage (Moore, 1992; Boklund *et al.*, 2003; Broes et Boutin, 2004; Casal *et al.*, 2007). Certains utilisent également une remorque située à distance du bâtiment principal afin d'effectuer le transfert d'animaux (Boklund *et al.*, 2003).

Le lavage et la désinfection devraient également être des mesures en vigueur pour les différents véhicules de transport. En effet, les véhicules ne sont pas toujours lavés et désinfectés entre chaque transport d'animaux (Pinto et Urcelay, 2003; Boklund *et al.*, 2004). Dans certains pays, l'utilisation de rotoluves est également documentée (Pinto et Urcelay, 2003; Casal *et al.*, 2007). Plusieurs études expérimentales soutiennent l'efficacité des protocoles d'assainissement sur les camions de transport. En effet, le lavage, la désinfection et le séchage de 12 heures a évité la contamination résiduelle du camion et la contamination ultérieure des sentinelles lors des 10 essais effectués (Dee *et al.*, 2004c). Un autre modèle à échelle réduite corrobore les mêmes faits n'observant aucune différence significative entre le système de séchage thermo-assisté (TADD) et un séchage de 8 heures (Dee *et al.*, 2005c). L'efficacité du système TADD consistant à chauffer à haute température (88 à 92°C) avec de l'air à haute vitesse (12.4 m/sec) l'intérieur

de la remorque pour 2 heures a été évaluée en utilisant des remorques commerciales de taille réelle résultant en l'absence d'échantillon RT-PCR positif 120 min post-traitement (Dee *et al.*, 2007). Le choix du désinfectant est néanmoins important, les meilleurs résultats étant obtenu avec une combinaison d'ammonium quaternaire et de glutaraldéhyde, auquel du méthanol 40% ou propylène glycol 10% peuvent être ajoutés pour une meilleure efficacité (Dee *et al.*, 2004a, 2005b).

Gestion des aérosols

La filtration d'air est un outil visant à empêcher l'entrée des bioaérosols, particules ayant entre 0.5 et 100 μm (Stärk, 1999). Suite à l'évaluation expérimentale de 3 techniques de filtration, la transmission aux porcs susceptibles se produisait moins fréquemment avec le filtre HEPA (0/10 réplifications) et avec un filtre peu dispendieux (4/10) que sans aucune filtration (9/10) (Dee *et al.*, 2006a). D'autres études expérimentales testant différents types de filtres ont obtenu des résultats similaires (Dee *et al.*, 2005a; Dee *et al.*, 2006b). Utilisant des conditions plus représentatives du terrain, des essais effectués sur plusieurs bâtiments concluent également en l'efficacité de la filtration (Pitkin *et al.*, 2009b; Pitkin *et al.*, 2010). Les filtres mécaniques MERV 16 ou 14 peuvent prévenir à la fois le transport et la transmission par aérosols aux porcs susceptibles, alors que les filtres antimicrobiens préviennent seulement la transmission (Pitkin *et al.*, 2009b; Dee *et al.*, 2010b). Malgré l'efficacité de la filtration d'air, plusieurs défis liés à son implantation demeurent, tels que minimiser l'entrée d'air extérieur lors de l'entrée de personnel, visiteurs ou porcs (Reicks, 2009). Un système de doubles portes a donc été conçu où une chambre intermédiaire située entre les deux portes assure un renouvellement d'air (Pitkin *et al.*; Reicks, 2009). Ce dernier système, tout comme la filtration d'air ne sont pas répandus au sein des troupeaux commerciaux. En 2009 aux États-Unis, 21 centres d'insémination, 8 troupeaux reproducteurs, 3 centres de recherche et 1 site de finition étaient sous air filtré (Reicks, 2009).

Gestion des insectes, rongeurs et oiseaux

Bien qu'aucune étude observationnelle ne témoigne des bienfaits du contrôle des insectes sur le statut SRRP, celui-ci devrait être instauré en raison d'une transmission mécanique rapportée (Otake *et al.*, 2002d; Otake *et al.*, 2004). En Belgique, 72% des 421 troupeaux évalués mentionnent avoir un contrôle systématique sur les insectes (Ribbens *et al.*, 2008). Le roulement en TPTV permettant la vidange des dalots ainsi que le lavage, la désinfection et le

séchage des locaux aura une importance capitale sur la dynamique de population des insectes en favorisant directement la destruction des œufs ou des substrats alimentaires et en diminuant le taux d'humidité nécessaire au développement des larves (Ebeling, 1975; Conseil canadien du porc, 2004; Otake *et al.*, 2004; Barrington *et al.*, 2006). Le contrôle devrait également inclure l'usage de piège à mouches et de moustiquaires dans toutes les prises d'air et fenêtres ainsi que l'entretien du site (Conseil canadien du porc, 2004; Pitkin *et al.*, 2009d). Finalement, des insecticides à base de pyréthrinés commercialement disponibles peuvent être appliqués au besoin. Néanmoins, une étude n'a pas identifié de différence significative entre le contrôle des populations de mouches utilisant les moustiquaires seuls ou combinés à des insecticides (Schurrer *et al.*, 2006).

Certaines études rapportent que 89% des sites effectuent un contrôle systématique des rongeurs (Ribbens *et al.*, 2008). L'entretien du site et les rodenticides sont les armes de choix (Conseil canadien du porc, 2004). Une compagnie d'extermination peut être engagée de façon à établir un protocole adapté aux besoins du site soit en repérant l'espèce problématique, les endroits à privilégier pour l'installation de pièges et en sélectionnant les substances chimiques adaptées. Toutefois, lorsqu'un exterminateur professionnel est engagé, il doit avoir pris connaissance des mesures de biosécurité en vigueur sur le site. Même si l'accès aux oiseaux et autres mammifères sauvages et domestiques est limité en raison des élevages commerciaux majoritairement en confinement, une attention particulière doit être dirigée à éviter leur entrée dans les élevages. Ainsi, des grilles empêchant l'accès aux oiseaux devraient être installées dans les prises d'air et l'entretoit pour tous les bâtiments sur le site, certaines études rapportant leur présence à l'intérieur des élevages dans plus de la moitié des sites investigués (Ribbens *et al.*, 2008).

Contrôle

Plusieurs méthodes de contrôle sont proposées afin de limiter la transmission du virus au sein des troupeaux infectés. Cependant, la majorité des études rapportant leur effet en termes de réduction de la transmission ou d'augmentation des performances impliquent un petit nombre de troupeaux, de courtes périodes d'observation ou alors l'absence d'un groupe contrôle (Dee *et al.*, 1993; Dee et Joo, 1994b; Dee *et al.*, 1997; Dee, 1998; Dee *et al.*, 1998). Néanmoins, les mesures les plus souvent appliquées afin de limiter la transmission intra-troupeau dans le but de produire des porcelets négatifs sont présentées ci-dessous.

Conduite d'élevage

Un roulement tout-plein tout-vide (TPTV) est préconisé pour tous les stades de production, pouvant s'appliquer à l'échelle d'une chambre, d'un bâtiment ou d'un site (Moore, 1992; McCaw, 2003). Ainsi, on rapporte cette mesure sur plus de 80% des sites investigués soit en mise-bas ou en pouponnière (Casal *et al.*, 2007; Laanen *et al.*, 2010), mais à une fréquence d'environ 50% en engraissement (Boklund *et al.*, 2004; Martano, 2010). Ce roulement de production devrait être accompagné du lavage et de la désinfection des locaux (Boklund *et al.*, 2004; Laanen *et al.*, 2010), un vide sanitaire étant parfois documenté (Pinto et Urcelay, 2003; Laanen *et al.*, 2010). Tout le matériel organique (fèces, urine, nourriture, sécrétions) doit être retiré et toutes les surfaces devraient être lavées à grande pression, désinfectées, rincées et séchées (Pitkin *et al.*, 2009d). Au sein d'une étude faite sur les troupeaux SRRP positifs, le roulement TPTV par chambre, bâtiment ou site était d'ailleurs un facteur préventif contre la présence d'avortements, d'infertilité ou de mortalité chez les truies (Goldberg *et al.*, 2000b). De plus, le TPTV pratiqué en engraissement était un facteur préventif pour la présence de signes respiratoires en pouponnière (Goldberg *et al.*, 2000b). Par contre, d'autres n'ont pas réussi à identifier d'association entre le roulement de production et le statut SRRP ou la présence de co-infections (Lopez-Soria *et al.*, 2010). Des rapports de cas font également mention du bénéfice du TPTV à la diminution de la circulation du virus SRRP sur 2 sites naisseur-finisueur en voie d'élimination (Freese et Joo, 1994). L'utilisation d'aiguilles différentes entre chaque portée ou parc traité est également recommandée. Les aiguilles devraient être changées entre chaque truie ou alors un système d'injection sans aiguille devrait être utilisé pour réduire la transmission mécanique comparativement au système conventionnel (McCaw, 2003; Pitkin *et al.*, 2009d; Baker *et al.*, 2010).

L'acronyme McREBEL «Management Changes to Reduce Exposure to Bacteria to Eliminate Losses» représente un concept développé en 1994 par McCaw (1995) regroupant plusieurs pratiques de régie afin de contrôler les infections bactériennes secondaires et la mortalité observées chez les porcelets à la mamelle et en pouponnière durant ou suite à un épisode de SRRP (McCaw, 1995; McCaw, 2003). En mise bas, les pratiques visent, entre autres, à limiter les adoptions, mais également à respecter un roulement TPTV et à changer d'aiguille entre chaque portée (McCaw, 2003). La procédure a été associée à une augmentation du poids au sevrage, ainsi qu'à une diminution de la mortalité pré-sevrage et en pouponnière (McCaw,

2000). Récemment, on mentionnait également une recrudescence de la proportion de porcelets PCR positifs suite à une relâche des procédures McREBEL (Polson *et al.*, 2010).

Dépeuplement partiel

Les porcelets sevrés sont transférés dans un bâtiment hors site favorisant une interruption du roulement tout en permettant de procéder à un lavage, une désinfection et un vide sanitaire des bâtiments principaux. La méthode requiert des infrastructures disponibles, doit parfois être répétée à tous les 1-2 ans et peut être difficile à appliquer au sein des gros troupeaux (>1000 truies) (Dee, 2003). De même, en raison de la transmission verticale causant des porcelets virémiques à la naissance (Kranker *et al.*, 1998), la technique ne sera efficace que si combinée à la stabilisation du troupeau reproducteur (Dee et Joo, 1994b; Dee, 2003). C'est donc une méthode permettant de gérer une infection endémique en pouponnière ou engraissement. On mentionne le succès de l'élimination virale suite à une dépopulation partielle des porcs en croissance et en éliminant les truies positives sur 2 des 5 fermes l'ayant appliquée (Le Potier *et al.*, 1997). De plus, une dépopulation partielle suivie de nettoyage, désinfection et vide sanitaire de deux semaines a résulté en une augmentation des performances en post-sevrage (Dee et Joo, 1994b). Sans que la transmission ne puisse être prévenue pour toutes les pouponnières dépeuplées, la méthode a obtenu des résultats généralement positifs au sein de systèmes plus complexes comportant plusieurs fermes et localisés dans des zones de forte densité porcine (Dee *et al.*, 1996).

Vaccination commerciale

Au Canada, trois vaccins commerciaux vivants atténués sont disponibles, contenant soit la souche MLV (Ingelvac ® PRRS MLV ou Reprocyc ® PRRS-PLE, Boehringer-Ingelheim Animal Health, Inc., Canada) ou ATP (Ingelvac ® PRRS ATP, Boehringer-Ingelheim Animal Health, Inc., Canada). De façon générale, les vaccins tués ont une efficacité limitée (Scortti *et al.*, 2007). Les vaccins vivants modifiés sont homologués pour les porcs âgés de plus de 3 semaines ainsi que pour les cochettes et truies. Certains écrits témoignent de leur efficacité en conditions expérimentales pour diminuer les signes respiratoires ou favoriser les performances de croissance (Gorcyca *et al.*, 1995; Hesse *et al.*, 1997; Okuda *et al.*, 2008) ou pour agir sur le niveau IFN γ ou d'anticorps neutralisants (Foss *et al.*, 2002; Meier *et al.*, 2003). Sur le terrain, une réduction de la mortalité ou des signes cliniques respiratoires et des meilleures performances de croissance sont rapportés suite à la vaccination (Mavromatis *et al.*, 1999; Cano

et al., 2007b). Une étude terrain démontre également qu'il est possible de stabiliser un troupeau reproducteur positif et produire des porcelets négatifs en utilisant un vaccin vivant modifié (Rajic *et al.*, 2001). Une vaccination de masse répétée au sein d'une population infectée diminuerait également le nombre de porcs infectés de façon persistante ou excréant le virus d'une souche homologue présente dans le troupeau, sans toutefois l'éliminer ou empêcher l'infection par une souche hétérologue (Cano *et al.*, 2007b). Cependant, lors d'une étude expérimentale, même si la vaccination diminue la durée et le niveau de virémie, la transmission du virus en tant que telle n'est pas réduite de façon significative (Nodelijk *et al.*, 2001). Aucune étude quantitative n'a évalué la capacité des vaccins à réduire la transmission en conditions de terrain.

L'efficacité du vaccin peut dépendre du type de souche rencontrée. En effet, certaines études expérimentales soutiennent l'efficacité du vaccin vivant modifié contre les défis homologues (Christopher-Hennings *et al.*, 1997; Labarque *et al.*, 2004; Cano *et al.*, 2007b; Okuda *et al.*, 2008), mais rares sont celles documentant son efficacité contre des défis hétérologues ou face à des souches divergentes (Opriessnig *et al.*, 2005). En fait, la majorité des études expérimentales documentent une efficacité limitée des vaccins vivants modifiés face à un défi hétérologue (Lager *et al.*, 1999; Meng, 2000; Murtaugh *et al.*, 2002; Labarque *et al.*, 2003b; Labarque *et al.*, 2004; Cano *et al.*, 2007a; Okuda *et al.*, 2008). Afin de combler cette lacune, des vaccins composites ont été évalués. L'inclusion de plusieurs souches au sein des vaccins a été suggérée tout comme l'utilisation idéalement de souches circulant localement (Mengeling *et al.*, 2003b; Kimman *et al.*, 2009). Cependant, des études expérimentales ayant évalué des vaccins multi-souches (incluant plusieurs souches de terrain vivantes atténuées) n'ont pas montré d'avantage évident à utiliser ce type de vaccin comparativement à un vaccin commercial basé sur une seule souche pour contrer un défi hétérologue (Mengeling *et al.*, 2003a; Mengeling *et al.*, 2003b).

Outre ce problème, le virus contenu dans les vaccins vivants modifiés peut persister dans le sérum à des titres élevés aussi longtemps que 3-4 semaines, pouvant même être identifié dans le sérum et les poumons par IV et PCR 42 j suivant la vaccination (Meier *et al.*, 2003; Mengeling *et al.*, 2003a). D'autres auteurs ont démontré que la souche vaccinale peut traverser le placenta, causer une infection congénitale des fœtus si administré à 90 j de gestation et que l'infection peut être transmise entre les porcelets infectés et susceptibles (Mengeling *et al.*, 1996; Mengeling *et al.*, 1998). De plus, même si la vaccination réduit ou limite l'excrétion du virus

dans la semence lors d'un défi homologue, la souche vaccinale peut être excrétée dans la semence (Christopher-Hennings *et al.*, 1997). Finalement, la souche vaccinale peut non seulement persister au sein des animaux vaccinés aussi longtemps que des souches de terrain (Mengeling *et al.*, 1996), mais également muter en une forme moins atténuée, allant vers une réversion de la virulence (Mengeling *et al.*, 1999; Wesley *et al.*, 1999; Nielsen *et al.*, 2001).

Acclimatation

La disponibilité des cochettes SRRP négatives matures (110 kg, 185-200 jrs d'âge) ou immatures (5-8 kg à 12-30 j ou 20 kg à 40-50 j) entraîne une nouvelle problématique dans les troupeaux SRRP positifs (Denicourt et Klopfenstein, 2004). En effet, l'entrée de sujets naïfs, et donc susceptibles, directement dans un troupeau reproducteur positif, peut provoquer une réactivation de la circulation virale et donc favoriser la relance d'épisodes cliniques (Nilubol et Thacker, 2002). L'acclimatation est une stratégie venant pallier à ce problème (Dee *et al.*, 1995). Elle se définit comme le processus visant à exposer volontairement les cochettes aux pathogènes infectieux, dans ce cas-ci à une souche de SRRP, provenant du troupeau receveur, jumelé à une période de récupération avant leur introduction dans le troupeau reproducteur (Nilubol et Thacker, 2002; Giovanardi *et al.*, 2003; Vashisht *et al.*, 2008). Ainsi, l'objectif principal est de favoriser l'obtention d'une immunité protectrice utilisant la souche du troupeau (Dee, 1997), l'efficacité d'un défi homologue ayant été démontrée précédemment (Lager *et al.*, 1997a; Shibata *et al.*, 2000). Elle représente donc un moyen de contrôler l'excrétion virale au sein d'un troupeau reproducteur suite à l'introduction continue de cochettes naïves dans un environnement truffé de porteurs chroniques (Wills *et al.*, 1997c).

Le processus d'acclimatation se compose de trois périodes distinctes soit l'isolement, l'exposition et la récupération (Dee, 2003). Ainsi, alors que l'isolement réfère essentiellement à la fonction de quarantaine, l'exposition vise la mise en contact avec la souche de SRRP endémique du troupeau. Finalement, le processus d'acclimatation se conclut par une période de récupération visant à éviter l'entrée de cochettes récemment exposées et excréant toujours activement le virus au sein du troupeau reproducteur. Durant les différentes périodes, les procédures diagnostiques sont essentielles afin d'éviter des problèmes tels que la non-exposition, l'exposition sans infection ou l'infection au moment de l'entrée dans le troupeau reproducteur (Denicourt et Klopfenstein, 2004). En résumé, l'immunisation des cochettes, mais également l'absence de virémie se doivent d'être vérifiées avant l'entrée des cochettes

dans le troupeau reproducteur (Cuartero *et al.*, 2002; Giovanardi *et al.*, 2003). Considérant que les animaux apparemment en bonne santé sont trouvés virémiques après le processus d'acclimatation (Giovanardi *et al.*, 2003), des procédures devraient favoriser l'efficacité et la sécurité du processus. Celui-ci devrait également être effectué dans un bâtiment hors site, situé à distance des autres sites de production (Dee, 2003) Au minimum, une unité isolée du troupeau reproducteur, possédant un système de ventilation et de dalots indépendants et fonctionnant en TPTV devrait être utilisé (Batista *et al.*, 2002b; Dee, 2003; Pesente *et al.*, 2006).

La période d'exposition doit être soigneusement contrôlée. Idéalement, l'exposition devrait s'effectuer simultanément pour toutes les cochettes d'un même groupe de façon à ce qu'elles développent leur immunité environ au même moment et facilitant l'identification du moment idéal pour le transfert dans le troupeau reproducteur (Batista *et al.*, 2002b; Corzo *et al.*, 2010). Plusieurs stratégies d'exposition ont été proposées soit le contact direct ou indirect avec des porcs infectés, des organes ou tissus infectés à ingérer ou alors l'inoculation de sérum infecté (Batista *et al.*, 2002b; Nilubol et Thacker, 2002; Vashisht *et al.*, 2008). Tel qu'évaluée expérimentalement, l'inoculation de sérum provenant de porcelets virémiques réussit à produire une séroconversion chez des cochettes séronégatives (Batista *et al.*, 2002b). Cette méthode représente donc un outil intéressant pour lutter contre l'hétérogénéité virale (Batista *et al.*, 2003b).

La période de récupération vise à éviter l'entrée de cochettes excréant activement le virus au sein du troupeau reproducteur (Denicourt et Klopfenstein, 2004). Certains suggèrent au moins 30 jours (Dee, 2003), mais des résultats RT-PCR positifs ont également été obtenus dans plusieurs tissus de truies et ce, 72 et 86 j PI (Bierk *et al.*, 2001b). Même si la persistance n'a pas été observée ≥ 120 j PI chez des cochettes de 6-7 mois (Batista *et al.*, 2002a), une autre étude mentionne que le virus était toujours présent dans les amygdales au jour 157 PI (Wills *et al.*, 1997c). Par conséquent, plus la période de récupération est courte, plus le risque d'introduction d'animaux excréteurs augmente. Or, cette période est particulièrement difficile à respecter dans un contexte de production commerciale achetant des animaux de remplacement matures. La cochette immature (5-7 kg) mise en contact avec les porcelets commerciaux durant la période post-sevrage (40-45 j) permet de favoriser l'exposition aux pathogènes du troupeau tout en disposant de toute la période de croissance et de pré gestation, soit environ 160 jours pour la récupération (Denicourt et Klopfenstein, 2004).

Élimination

Plusieurs méthodes d'élimination sont documentées dans la littérature et semblent, du moins à court terme, donner de bons résultats (Dee et Joo, 1994b; Dee *et al.*, 2000). Par contre, le succès pour maintenir à long terme un statut négatif demeure imprévisible (Holtkamp *et al.*, 2010b). En effet, les réinfections sont non seulement possibles, mais fréquentes. Dans une étude de survie de 33 troupeaux SRRP négatifs ayant éradiqué l'infection, 39% se sont réinfectés durant la première année de l'étude et 85% au terme de l'étude, le temps maximal pour lequel un troupeau est demeuré négatif étant de 452 semaines (Holtkamp *et al.*, 2010b). La décision d'éliminer doit entre autres être basée sur plusieurs facteurs dont la proximité et la densité des fermes porcines voisines, les règles en vigueur de biosécurité externe et interne visant à limiter les introductions latérales d'infection et les coûts reliés aux différentes méthodes d'élimination (Torremorell *et al.*, 2003; Batista, 2005; Yeske, 2010).

Dépeuplement et repeuplement

Dans ce processus, tous les truies et porcelets sont éliminés, ce qui est suivi par un lavage à pression, une désinfection, un séchage et un vide sanitaire (>2 semaines). Par la suite, des cochettes SRRP négatives peuvent être introduites (Le Potier *et al.*, 1997; Corzo *et al.*, 2010; Holtkamp *et al.*, 2010b). Une gestion des truies hors site peut être pratiquée afin de limiter l'interruption du flot de production (Corzo *et al.*, 2010). Cette procédure a été employée lors de la gestion de la crise au Danemark en 1996, où les centres d'insémination ayant vacciné avec une souche commerciale vivante atténuée ont constaté le potentiel de transmission via la semence (Mortensen *et al.*, 2002). Elle permet d'effectuer une élimination efficace et rapide du virus SRRP et potentiellement d'autres pathogènes présents de manière endémique ainsi que d'augmenter le potentiel génétique du troupeau reproducteur. Toutefois, elle s'avère particulièrement coûteuse et probablement moins applicable dans un contexte de production commerciale.

Test et réforme

Suite à des tests sérologiques, les truies positives sont réformées (Dee, 2003). Le renouvellement est ensuite assuré par l'achat d'animaux de remplacement SRRP négatifs. Cette méthode a comme désavantage le coût relié aux procédures diagnostiques, le travail intensif et

du retrait prématuré de truies séropositives. Les faux-positifs demanderont des investissements supplémentaires afin de confirmer le statut réel, alors que les faux-négatifs seront également à considérer, le virus pouvant être détecté dans les tissus par RT-PCR chez un porc séronégatif (Wills *et al.*, 2002). Certains rapportent son efficacité sur le terrain (Dee *et al.*, 2001a; Dee, 2004). Néanmoins, pour optimiser le taux de réussite, on suggère qu'elle soit effectuée lorsque la séroprévalence est <50% et sur une ferme préalablement stabilisée (Le Potier *et al.*, 1997; Dee *et al.*, 2000; Desrosiers et Boutin, 2002). À titre d'exemple, sur un troupeau naisseur de 825 truies, tous les adultes ont été testés par ELISA et PCR; résultant dans le retrait de 88 animaux (10.7%) dont 3 étaient positifs par ELISA et PCR alors que 85 n'étaient positifs que par ELISA (Dee *et al.*, 2000). Après monitoring des animaux adultes et en croissance pour 12 mois, les 960 échantillons étaient négatifs pour la présence d'anticorps (Dee *et al.*, 2000).

Fermeture du troupeau

La fermeture du troupeau est une méthode de stabilisation, mais pouvant également mener à l'élimination du virus. Il s'agit d'une période de temps donnée pour laquelle aucun remplacement de source interne ni externe n'est effectué. Ainsi, la fermeture d'un troupeau est un concept différent du troupeau fermé, où l'auto-renouvellement peut être pratiqué (Torremorell *et al.*, 2003). Bien que le troupeau fermé puisse favoriser le contrôle de la transmission, les cochettes ayant déjà été exposées au pathogène de l'élevage, ce dernier système ne parvient généralement pas à éradiquer le virus SRRP (Torremorell *et al.*, 2003). Plusieurs rapports de cas mentionnent les bienfaits de la fermeture de troupeau (Freese et Joo, 1994; Dee *et al.*, 1995; Desrosiers et Boutin, 2002). Combinée à la ségrégation des cochettes vs. les truies, une diminution significative des anticorps anti-SRRP était alors observée (Dee *et al.*, 1995). Dans une autre étude, après avoir exposé activement les animaux, Desrosiers *et al.* (2002) ont réussi à éliminer le virus d'un troupeau naisseur après une fermeture de 23 semaines. Certains mentionnent un pourcentage de succès de 85% pour les fermes ayant une production séparée en trois sites et où le troupeau de truies peut être géré séparément; l'implantation d'une telle procédure sur un site naisseur-finisser en continu pourrait être plus ardue (Torremorell *et al.*, 2003). Suite à une fermeture de 37 semaines, les 15 troupeaux évalués sont demeurés négatifs pendant une période de 4 ans, la majorité produisant au moins le même nombre de porcelets sevrés que dans l'année précédant la fermeture (Schaefer et Morrison, 2007). Une autre étude documente également que les performances reproductrices peuvent augmenter suite à une procédure d'élimination (DuBois, 2007).

Préalablement à la fermeture, l'entrée de cochettes SRRP négatives en grand nombre et d'âge variable peut minimiser l'influence du processus sur le flot de production (Nilubol et Thacker, 2002). Certains accélèrent également l'exposition par l'inoculation virale, l'exposition à des porcelets ou tissus de ceux-ci ou alors en déplacement les truies ayant avorté ou démontré des signes cliniques au sein de l'élevage (Desrosiers et Boutin, 2002; Batista *et al.*, 2003a). Certains utilisent également une vaccination commerciale de masse (Harding *et al.*, 2011). Par la suite, la période de fermeture proprement dite est nécessaire au développement de l'immunité et à la cessation de l'excrétion chez les animaux infectés. Cette période doit se prolonger en raison d'une part de l'immunité cellulaire pouvant prendre jusqu'à 6 mois à se développer (Meier *et al.*, 2003) et de la persistance du virus pouvant atteindre 157 j (Wills *et al.*, 1997c). Une fermeture de 6 mois est donc recommandée (Torremorell *et al.*, 2003). Suite à la fermeture, tous les animaux reproducteurs doivent être infectés et immunisés contre la souche circulant dans le troupeau, afin qu'il n'y ait plus d'animaux susceptibles pouvant favoriser la circulation virale (Lager *et al.*, 1997a; Torremorell *et al.*, 2003). Avant l'introduction de cochettes au sein du troupeau reproducteur, la cessation de la circulation virale doit être confirmée via l'obtention de porcelets sevrés PCR négatifs (Desrosiers et Boutin, 2002; Batista, 2005) ou suite à l'absence de séroconversion de sentinelles introduites dans le troupeau (Nilubol et Thacker, 2002; Torremorell *et al.*, 2003; Batista, 2005).

Contrôle et élimination régional

Compte tenu de l'impact économique de la maladie, des multiples voies de transmission du virus entre les différents sites de production et des réinfections fréquentes marquant l'insuccès des efforts individuels, les programmes régionaux de contrôle ou d'élimination ont gagné en popularité. Ne s'agissant pas d'une maladie à déclaration obligatoire, ni d'une zoonose, tout programme régional est par contre effectué sur une base volontaire. Suite à l'introduction de la maladie dans quelques troupeaux en Suède ou lorsque la prévalence était faible au sein du Pays de la Loire en France, le contrôle voire l'élimination a été possible en minimisant les mouvements d'animaux et autres véhicules ou alors en pratiquant le dépeuplement/repeuplement des troupeaux infectés (Le Potier *et al.*, 1997; Carlsson *et al.*, 2009). Néanmoins, il a été mentionné que l'élimination du virus au sein des régions infectées de façon endémique était pratiquement impossible (Albina, 1997). Depuis, plusieurs initiatives de contrôle ou d'élimination régionales ont été tentées en Amérique, mais les résultats n'ont pas été publiés

(Mondaca-Fernandez et Morrison, 2007; Morrison *et al.*, 2007). En 2010, on mentionnait la présence d'initiatives de contrôle régional dans 9 états américains et en Ontario (Waddell, 2010). Au Mexique, dans l'état de Sonora où la prévalence était supérieure à 95%, un contrôle régional a aussi été tenté (Batista *et al.*, 2010). Outre le Chili qui pourrait bien être le premier pays à avoir réussi à éradiquer la maladie de son territoire (Castanon Garbarino, 2010), le premier projet d'élimination au sein d'une région infectée de manière endémique ayant publié des résultats positifs a été effectué sur 89 producteurs du comté de Stevens au Minnesota en 2009 (Corzo *et al.*, 2010). La faisabilité de telles initiatives dans un contexte de haute densité porcine québécoise reste toujours à évaluer et pourrait présenter certaines difficultés.

Exposé et analyses des résultats

La présente section vise à présenter les principaux résultats découlant de ce projet de recherche. Ceux-ci sont rassemblés au sein de quatre chapitres répondant aux objectifs spécifiques précédemment énoncés. Ces chapitres sont présentés sous la forme d'articles scientifiques tels que présentés aux fins de publication à trois revues scientifiques.

Chapitre 1

Investigation of gilt replacement strategies used in two swine production areas in Quebec in regard to porcine reproductive and respiratory syndrome virus

**Marie-Ève Lambert, DVM^a, Martine Denicourt, DVM, MSc^a,
Zvonimir Poljak, DVM, MS, PhD^b, and Sylvie D'Allaire, DVM, MSc, PhD^a**

^aFaculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, St. Hyacinthe, Quebec, Canada

^bDepartment of Population Medicine, Ontario Veterinary College, University of Guelph, Ontario, Canada

Article soumis aux fins de publication dans la revue:

Journal of Swine Health and Production

Summary

Objectives: To describe replacement strategies used for gilts in regard to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and to assess their regional differences.

Materials and methods: A cross-sectional study was conducted in breeding sites located in a high (HD) and a moderate (MD) pig density areas in Quebec between May 2005 and August 2008. Questionnaire completion and PRRSV status were obtained for 124 sites (MD=54; HD=70) of which 106 (85%) were positive.

Results: Self-replacement, purchase of immature or mature gilts was observed on 37%, 28% and 35% of the sites, respectively. In positive sites purchasing mature gilts (n=34), 18% had a PRRSV positive supplier and gilts were introduced either directly into the sow herd (15%) or following an isolation (41%) or acclimatization (44%) period. In positive sites purchasing immature gilts (n=31), most practiced acclimatization (93%) either by commingling gilts with commercial pigs (93%) or by using serum inoculation (7%). Most acclimatization processes were not monitored through diagnostic procedures and cool down duration was often insufficient. Lower sow inventory, higher prevalence of PRRSV infection and higher frequency of self-replacement were observed in HD compared to MD area ($P<0.05$). Positive sites practicing voluntary exposure to PRRSV and negative sites both clustered spatially ($P<0.05$) within MD area.

Implications: Some strategies were found to be inadequately applied and thus might increase the risk of PRRSV introduction or recirculation of an endemic strain within a sow herd or a region.

Keywords: Swine, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, gilt, acclimatization, spatial.

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is a viral disease having major economic impact on swine industry.¹ In breeding herds experiencing a clinical outbreak, decreased farrowing rate, premature farrowings, abortions, heterogeneous litters composed of stillborns, mummies or weak piglets and increased pre-weaning mortality can be observed.² Once introduced into a herd, the virus can be horizontally transmitted through direct contact with various fluids from infected pigs or through the indirect pathway, being mechanically conveyed by aerosols, insects or fomites as boots, coveralls or needles.³⁻⁸ Viremic sows can also transmit the infection to their progeny either transplacentally or through direct contact with vaginal, mammary or other secretions.⁹ Viral circulation can be further maintained by pigs persistently infected, complicating PRRS management.¹⁰

Gilt replacement represents a real challenge for on-farm prevention and control of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). Indeed, PRRSV positive replacement animals represent a risk factor for introduction of a PRRSV strain in both PRRSV negative or positive herds.¹¹ Even these latter herds are also at risk for re-infection since only partial immune response was reported after heterologous challenge.¹²⁻¹⁴ Combined to the important genetic and antigenic diversity among PRRSV strains, this lack of cross-protection precludes complete effectiveness of disease control through the sole use of commercially available modified-live vaccines, which are each composed of a single virus strain.¹⁵ Consequently, preventive measures absolutely have to be established to avoid introduction of new PRRSV strains within a herd. Furthermore, a PRRSV positive sow herd buying PRRSV negative replacement without introducing gilts properly could result in a destabilization of contemporary herd immunity, enhancing circulation of the endemic viral strain. Gilt acclimatization is actually the most common and effective strategy to address this problem.^{16, 17} It can be defined as voluntary exposure of incoming gilts to PRRS herd endemic strain followed by a cool down period so gilts are no more shedding virus when introduced into the sow herd.^{18,19, 20}

Several gilt replacement strategies are probably performed in the field. However, absence of compliance with basic principles could seriously compromised PRRS management at the herd level or regionally. The objectives of this study were to describe replacement strategies used

for gilts in regard to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and to assess their regional differences.

Materials and methods

Study design and source population

As part of a larger study on the transmission and control of PRRSV, a cross-sectional study was conducted on strategies used to introduce replacement stock in sites located in two areas of Quebec between May 2005 and August 2008. A high density (HD) area was selected, which corresponded to 10 adjacent municipalities (354 pigs/km², FLORA: Identification and registration database of swine production sites in Quebec (MAPAQ, 2010)), located in the Monteregie administrative region, where all types of production were included. A moderate density (MD) area was also selected (44 pigs/km² (MAPAQ, 2010)), corresponding to the Estrie region of Quebec, in which only sites housing sows were included in our source population. This entire region was selected in order to obtain a comparable number of breeding sites in both areas. Weaners and finishers were not included in this latter area due to limited resources available for the study.

The unit of interest was the production site, defined as one or more barns located within 300 m from another, belonging to the same owner (individual or corporate) and having the same animal source(s). In order to select sites, all producers listed into the Quebec Federation of Pork Producers (FPPQ) database and included in the source population were contacted. A written description of the project and a participation form to be signed and returned were initially sent to them, and participation was obtained through a voluntary basis. For refusal or in absence of a response, producers were contacted by phone to inquire for their participation or for reasons of refusal.

Questionnaire

A questionnaire with semi-closed and open questions was developed to assess and describe the different strategies of replacement. Four veterinarians specialized in swine production and three producers were consulted to assess relevance, clarity and completeness of questions. The questionnaire was filled out by the first author during a 15 minute live interview with the owner on independent farm or with the employee for farm under contract. When it was

absolutely impossible to perform live interview (mainly because the producer was not available on the site), the questionnaire was completed during a phone interview. Information was gathered on sow and pig inventory, type of production, ownership, pig flow and PRRS commercial vaccination performed on the site. Questions also addressed the type of purchase of replacement gilts, source(s) of gilts, PRRSV status of supplier defined in a broad sense according to the best knowledge of the producer, interval between gilt introduction, number of gilts per group and back-to-back procedure for trucks delivering gilts, diagnostic procedures performed on gilts and strategies used to introduce them into the sow herd. Self-replacement referred to sites that had not purchased any gilt from external source for at least 6 months prior to the survey. When gilts were provided by an external source to the site, introduction strategies were further investigated. Isolation was defined as a period applied for purchased gilts before introduction into the sow herd, without voluntarily exposing them to endemic pathogens from recipient herd. In contrast, acclimatization referred to process where a voluntary exposure of purchased gilts to the herd endemic pathogens was allowed prior to their introduction into the sow herd. This latter strategy was combined or not with a cool down period which was defined as the interval between cessation of exposure and entrance of gilts into the sow herd. Another strategy was to introduce purchased gilts directly in the sow herd, without any isolation or acclimatization process. Questions pertained to practices at the time of questionnaire completion or during the previous 6 months depending on questions. Questionnaire, in French, is available upon request from the first author. Geographical coordinates of the site (latitude/longitude) were obtained using global positioning system (GPS).

Sampling strategy and laboratory analysis

Assessment of PRRSV status of production sites varied according to PRRS history and clinical signs at the time of sampling as noted by the producer. Sites housing at least one pig positive for presence of PRRSV or antibodies. All diagnostic procedures were done at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Montreal in St. Hyacinthe. The procedures were approved by the Comité d'éthique de l'utilisation des animaux of the University of Montreal (certificate number: 09-rech-1291).

On sites with lifelong herd clinical history of PRRSV (suspected to be positive)

For sites with clinical signs compatible with PRRSV at the time of sampling, animals were sampled in order to confirm their positive status to PRRSV infection and also to maximize the probability of identifying a PRRSV strain. A pool of lungs, tonsils and tracheobronchial lymph nodes was collected at time of necropsy of 1 to 3 suckling piglets, weaners or finishers, according to the stage of production being most clinically affected by dyspnea. At the onset of an outbreak with presence of abortions (rarely), sows were blood-sampled. In absence of clinical signs compatible with PRRSV at the time of sampling, 10 samples were drawn from animals at higher risk of viremia (gilts recently introduced into the breeding site or piglets in mid-nursery) and were pooled (maximum 5 samples per pool) for further analyses.

RNA was extracted from a homogenate of lungs, tonsils and lymph nodes or from serum with QIAamp viral RNA mini kit according to the manufacturer's instructions (Qiagen Inc., Mississauga, Ontario, Canada). Subsequently, RT-PCR was accomplished using Qiagen OneStep RT-PCR Kit and primers 5FN and 5DN under PCR conditions for detection of viral RNA as described by Larochelle et al. 2003.²² In the presence of a RT-PCR negative result, additional samples were submitted to RT-PCR (lungs, tonsils and lymph nodes from necropsy or serums) when available. If RT-PCR results were again negative, the strategy described below was used.

On sites with no history of PRRSV (suspected to be negative)

When no clinical history of PRRSV was reported by the producer and no commercial vaccination was performed on the site, samples were taken in order to confirm absence of infection. To that purpose, 30 sows of different parities were sampled. This strategy allowed the detection of infection in large sites assuming a 10% seroprevalence with a 95% herd confidence level. Sera were tested for presence of antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) commercially available (IDEXX HerdChek-PRRS 2XR) as originally described by Albina et al. 1992²³ and performed as recommended by the manufacturer. Seropositivity threshold was fixed to a sample-to-positive (S/P) ratio ≥ 0.4 . When ≤ 2 sample(s) out of 30 were positive, samples were retested by ELISA. The site was classified as positive when at least one sample was ELISA positive after retest. In presence of a positive ELISA, all positive sera were pooled up to a maximum of 5, sent for RT-PCR and submitted to the same procedure as described above.

Statistical analyses

Validation and descriptive statistics were performed on data using SAS (SAS Institute Inc., version 9.1, Cary, NC, USA) and sites having more than one missing value were excluded from subsequent analyses. Associations between herd characteristics and type of gilt purchased were evaluated using Pearson exact chi-square ($\alpha=0.05$) for categorical variables and Wilcoxon rank sum test ($\alpha=0.05$) for continuous data. Gilt introduction strategies were described according to PRRSV status of the recipient herd. For PRRSV positive sites purchasing and acclimatizing gilts, different characteristics regarding the acclimatization process (exposure and cool down period) were described and differences between type of purchased gilts (mature vs. immature) were assessed using the same statistical procedures described above. Descriptive statistics and differences between areas of herd characteristics, PRRSV status of breeding sites and gilt introduction strategies were also assessed ($P<0.05$).

Spatial analyses

The geographical distribution of PRRSV negative sites, PRRSV positive sites exposing gilts to herd endemic and/or to modified-live vaccines strain(s) and of PRRSV positive sites not exposing gilts was mapped for each area and interpolation was performed using Thiessen Polygons method to preserve confidentiality of producers using ArcGIS (Esri, version 9.3, Redlands, CA, USA). The presence of spatial cluster of negative sites or of sites exposing gilts to a wild-type and/or vaccine PRRSV strain was tested using the Spatial Scan Test (SaTScan, version 8.0, Boston, MA, USA), based on a purely spatial Bernoulli distributional assumption model and scanning for circular cluster using a 50% population size maximal threshold. Analyses were performed separately for each area. The first analysis performed used PRRSV negative sites as cases and PRRSV positive sites practicing or not exposure as controls to reveal PRRSV negative areas that should be protected in a perspective of prevention of disease introduction. A second analysis considered cases as PRRSV positive sites exposing gilts and controls as either negative sites or positive sites without exposure. This would allow to identify specific areas where strategies of voluntary exposure should be assessed and corrected if needed to prevent within-herd and regional PRRSV circulation. The statistical significance of clusters was determined through 9999 permutations and the most likely significant cluster ($P\leq 0.05$) was mapped (ArcGIS).

Results

A total of 306 producers listed in the FPPQ database were contacted for participation in the study. Among these producers, 30 were excluded from our source population due to the absence of swine production (MD and HD) or of the targeted production type (in MD only), 34 refused to participate for a lack of interest or time, and 29 were unreachable. This resulted in a global participation rate of 77%, and in the inclusion of 70 breeding sites, 1 boar stud and 120 weaners and/or finishers in HD area and 54 breeding sites in MD area. For this investigation, a total of 124 breeding sites were included in the study population, of which 106 (85%) were PRRSV positive. Four sites were excluded from further analyses having more than one missing values.

Commercial vaccination was performed on gilts and/or sows on 36 out of 120 (30%) sites. On these latter sites (n=36), either both sows and gilts (75%), gilts only (22%) or sows only (3%) were vaccinated. Sites where commercial vaccination was performed used live attenuated vaccines mainly MLV (Ingelvac® PRRS MLV or ReproCyc® PRRS-PLE, Boehringer Ingelheim, (Canada) Ltd.) strains (83%), followed by ATP (Ingelvac® PRRS ATP, Boehringer Ingelheim, (Canada) Ltd.) (11%) and two sites used both PRRSV vaccine strains (6%).

Purchase and introduction strategies used for gilts

Table I describes several associations observed between herd characteristics and type of purchase. When immature (<95 kg) or mature (≥95 kg) gilts were bought from an external source (n=76), most sites had only one supplier (97%). Immature gilts (n=34) were purchased on average at 6 week interval at a median weight of 5 kg, 90% of the sites buying <20 kg gilts. Mature gilts were bought every 7 weeks at a median weight of 114 kg. Back-to-back transportation which consist in transferring gilts from supplier's truck to owner's truck, was applied for gilt delivery on 26% of the sites, the proportion differing significantly between immature (44%) and mature (14%) gilts (P<0.01, exact chi-square test). Table II shows gilt introduction strategies used in PRRSV negative (n=18) and positive (n=102) sites according to the type of purchase. In PRRSV negative sites, all purchased gilts were from PRRSV negative source. In PRRSV positive sites, all immature gilts were purchased from a negative supplier whereas 6 out of 34 (18%) sites buying mature gilts were supplied by a PRRSV positive herd (n=5) or received PRRSV vaccinated gilts (n=1). Sites purchasing mature gilts from PRRSV positive external source had different gilt introduction strategies. Among PRRSV positive sites

practicing isolation, acclimatization or introducing their gilts directly into the sow herd, 63%, 30%, and 40% used also PRRSV commercial vaccination on gilts, respectively. On either PRRSV positive or negative sites, most isolation periods (n=19) were performed on premises or in rooms adjacent to the principal unit (89%) and more than the third operated with a continuous flow (37%) without washing and disinfecting between each group of gilts. The median duration of isolation was significantly different between producers purchasing mature and immature gilts ($P < 0.01$, Wilcoxon exact rank sum test), with a period of 7 and 15 weeks without any contact with animals from the recipient herd, respectively. Diagnostic procedures for PRRSV at the end of the isolation period and before entering gilts into the sow herd were routinely performed on 2 sites out of 19, using ELISA or a combination of ELISA and PCR.

Acclimatization process in PRRSV positive sites

On PRRSV positive sites, an acclimatization process where mature or immature gilts were potentially exposed to PRRSV endemic strain before their introduction into the sow herd was observed on 44 sites (43%) (Table II). Exposure was mostly realized through direct or indirect contact with live animals only (n=38), sometimes combined with placenta (n=3) or by serum inoculation (n=3), all sources of exposure being provided by the recipient herd. Among the three sites performing serum inoculation, two purchased immature gilts and exposed them in off-site facilities, observing an all-in all-out (AIAO) pig flow and a cool down period of 30 weeks. On the other site, mature gilts were inoculated within the principal unit and the pig flow was continuous. Table III shows descriptive statistics on exposure and cool down periods, both included into the acclimatization process, as practiced on PRRSV positive sites exposing gilts to live animals (n=41). To expose mature gilts (n=14), direct or indirect contact was promoted with one or more animals from the following categories: culled sows or boars, finishers, weaners or suckling pigs, sometimes adding placenta. This exposure period was mostly carried out within the principal unit (79%); on almost all sites, a room sharing the same ventilation or manure removal system as for other animals was used. Moreover, it was often performed in a continuous pig flow (64%). Table III also shows parameters for exposure of immature gilts (n=27). On these latter sites, gilts were commingled with commercial pigs to expose them to PRRS herd endemic strain either during the weaner-finisher phase (n=22), the weaner phase only (n=4) or in a separated unit located on the site (n=1). When exposure was done within the principal unit, gilts were housed in a separated pen from commercial in 69% of the sites. After the exposure period of immature gilts, 12 out of 27 applied a cool down.

This period was carried out in a gilt finisher unit preventing further contact with commercial pigs for a third of the sites. On the remaining two thirds, the cool down was mostly taking place in the principal unit (86%) often observing a continuous pig flow (38%). Among PRRSV positive sites practicing acclimatization (n=44), only 10 sites (23%) monitored PRRSV health status before entering gilts into the sow barn using either ELISA (20%), PCR (50%) or a combination of both methods (30%).

Regional differences

Descriptive statistics regarding herd characteristics, disease prevalence and gilt management are described in Table IV according to area. A smaller sow inventory, a higher prevalence of PRRSV positive sites and a higher frequency of breeding sites having no external source of gilts were observed in HD compared to MD area ($P < 0.05$). All PRRSV negative sites in the HD area practiced self-replacement. Geographical distribution of PRRSV negative sites and of PRRSV positive sites exposing or not of gilts to wild-type and/or vaccine PRRSV strain are presented for MD and HD areas in Figure 1 and 2, respectively. In the northern part of the MD area, a cluster of PRRSV negative sites ($P = 0.01$) of 40 km radius was revealed, grouping 8 sites of which 7 were PRRSV negative (Figure 1). In the same area, a significant spatial cluster of PRRSV positive sites exposing gilts ($P = 0.04$) of 15 km radius was also identified and grouped a total of 13 sites of which 12 exposed their gilts. No significant spatial cluster was identified in HD area (Figure 2).

Discussion

Results showed that self-replacement was mostly practiced by independently owned farrow-to-finish sites, having smaller sow inventory and operating their single or multiple farrowing room(s) in a continuous pig flow (Table I). It might have been adopted for economic reasons to reduce the cost of replacement but it may also be as a preventive method to limit introduction of new PRRSV strain through external source of gilts. Herd closure with self-replacement of gilts could also have been implemented in response to a PRRS problem, to stabilize infection within the sow herd.²⁴ This hypothesis would be in line with the higher frequency of self-replacement observed in the highly dense area, where a higher prevalence of the disease was observed.

Practices potentially at risk for PRRSV introduction into the sow herd

On both PRRSV positive and negative sites purchasing gilts from an external source, practices that could put their herd at risk for introduction of a new PRRSV strain were observed. Indeed, a few sites bought gilts from a PRRSV positive source or did not require any isolation period (Table II). Direct introduction of mature gilts into the sow herd may be due on some sites to the absence of facility specifically designed for isolation or to limitations in time to meet breeding targets. Even if purchased from a certified PRRSV negative supplier, gilts should never be introduced directly into the sow herd because there is still a risk of contamination before departure or during transport if vehicles are not washed or disinfected properly.²⁵ For gilt deliveries, back-to-back procedure is recommended to lower the risk of PRRSV transmission between both supplier and producer. Furthermore, a certificate testifying PRRSV negative status of incoming gilts combined with a quarantine of sufficient length for disease detection should be required to reduce the risk of PRRSV introduction.²⁶ In our study, although the length of the isolation period was appropriate, other essential criteria to insure its effectiveness were seldom met. A quarantine should be in a location separated from the main unit and operated with an AIAO pig flow. Diagnostic procedures to detect viremia or seroconversion were underutilized and should also be performed shortly after delivery to confirm negative status at arrival and before entering gilts into the sow herd since the absence of clinical signs does not guarantee the absence of infection.²⁷

Practices potentially at risk for re-circulation of PRRSV endemic strain within the sow herd

Several practices that may increase the risk of PRRSV circulation within positive breeding sites were highlighted. Indeed, a third of the positive sites purchasing gilts from an external source did not attempt any acclimatization process resulting in entrance of non-immune subpopulations and promoting PRRSV recirculation within the sow herd (Table II).¹⁷ Furthermore, when acclimatization was applied, several basic principles were not understood or respected hence compromising the efficacy and safety of the controlled process. The success of gilt exposure first depends on the ability of the infectious source to provide a sufficient but safe PRRSV dose. Many factors might have influenced the success of gilt exposure as the type of “infectious” sources (culled sow, dyspneic piglets, placenta, serum), the method of exposure (direct or indirect contact, inoculation) or on-farm dynamic of PRRSV transmission.¹⁹ Location and pig flow during the exposure period should also be considered.

On some sites, mature gilts were exposed to PRRSV endemic strain in a room adjacent to the sow herd, potentially leading to accidental re-infection of the sow herd.^{13, 28} Furthermore, the lack of AIAO observed during the process may also result in problems in controlling the duration and the end of the exposure period.¹⁹ Ideally, a punctual and simultaneous exposure of all incoming gilts should be favored in order to obtain a better control of the onset and duration of the cool down period. This last step of the acclimatization process is essential to allow time for gilts to recover clinically, to develop adequate immune response and to cease viral shedding before entering them into the sow herd.²⁸ The length of cool down is therefore dependent of virus persistence in infected animals, PRRSV has been isolated up to 157 days post-infection in tonsils.¹⁰ Unfortunately, only one third of the sites performing acclimatization by contact with live animals (Table III) respected a cool down period and the length of the cool down period was barely sufficient to avoid introduction of infectious animals.²⁹ Reaching this objective was obviously impossible when purchasing mature gilts (Table III). On most sites, no diagnostic procedures were used to monitor the success of the acclimatization process. This could lead to the introduction of either seronegative (failure of exposure) or viremic (failure of cool down) gilts, both scenarios being a threat for PRRSV control.^{20, 27}

Practices potentially at risk for maintenance of PRRSV strains within a region

The impact of exposing gilts to PRRSV endemic strains through inadequate acclimatization process and/or to commercial vaccine strains on PRRSV regional transmission is not largely documented in the literature. PRRSV endemic strain actively maintained within herd may contribute to area spread of virus between farms through aerosols, insects, vehicles or different fomites in absence of proper biosecurity.^{5, 6, 30} Furthermore, considering that vaccine strains can be shedded, can persist in vaccinated animals and can be transmitted to non-vaccinated pigs, their ability to circulate in the field also has to be considered.³¹⁻³³ Consequently, exposure to wild-type or vaccine PRRSV strains should then be performed on sites having already good internal biosecurity to contain as much viral circulation as possible while neighbourhood farms should also increase their external biosecurity standards.³⁴ Difficulties in controlling PRRSV at the herd or at a regional level could also emerge from co-circulation of different virus strains, either wild-type and/or vaccine, PRRSV being highly susceptible to mutations and potentially, to recombinations.^{35, 36} Regional approaches for PRRSV control should therefore take into account the presence of PRRSV strain(s) exposure within individual breeding sites. In the MD area, the presence of two spatial clusters, one with mainly negative sites and the other with

sites practicing exposure to a wild-type or vaccine PRRSV strain, suggests the possibility of targeting smaller zones for interventions to facilitate disease control (Figure 1). In fact, whereas PRRSV negative areas should be protected from virus introduction, how gilt exposure is performed should necessarily be addressed for zones practicing exposure. On the opposite, PRRSV management in the HD area could be seriously impeded due to the greater density and proximity of sites increasing the probability of area spread, but also to the higher prevalence of disease and the random distribution of negative sites and of positive sites practicing or not voluntary exposure (Figure 2).

Limitations

Assuming that some producers that could not be reached might have been out of business, this would have underestimated our participation rate. Nevertheless, the participation obtained improved the internal validity of the study, even if total absence of selection bias can not be warranted. Producers recorded into the FPPQ list from which the sample was selected were restricted to the ones having more than 5000\$ CAN annual income from agriculture. Gilt replacement strategies discussed in the current paper might not represent those used in sites having smaller pig inventory. This study also mostly included commercial breeding sites owned by independent producers located in two specific areas. Consequently, results should not be extrapolated to other areas or to multipliers or sites belonging to integrated system that might have different introduction strategies through availability of external gilts and facilities to implement them.

A single interviewer performed all the questionnaires with people working directly on the site and most questions referred to practices observed during the previous 6 months, decreasing recall bias. However, some misclassification bias regarding the PRRSV status of supplier of replacement animals and the number of sources are possible since responses given by the producer were not validated by the gilt supplier. Due to the absence of a standardized definition of the different gilt introduction strategies in the field, definitions were set a priori. Descriptive results regarding the strategies are therefore conditional to the previous classification. Most discussion about practices potentially at risk for PRRSV re-circulation within the sow herd pointed out gaps of the acclimatization process. However, since the project did not aim to evaluate the effect of every gilts introduction strategy on within-herd viral circulation, other strategies might also represent a certain risk. Finally, spatial analyses are

conditional to the subset of participating sites. According to the overall low standard of applying even basic principles of the acclimatization process, spatial cluster of PRRSV positive sites practicing voluntary exposure might suggest higher potential of viral circulation and thus higher potential to infect neighbouring herds. However, other studies are required in order to better quantify the impact of acclimatization process on neighbourhood.

In conclusion, this study identified specific issues regarding gilt replacement increasing either the probability to introduce of a PRRSV strain into a herd or to promote the circulation of an endemic strain. Acclimatization which should be an effective method for controlling PRRSV in a sow herd was the worst applied gilt introduction strategy with regard to basic principles, particularly for mature gilts. Voluntary exposure of gilts to either PRRSV wild-type and/or vaccine strain has to be considered in any targeted interventions to control the disease regionally. Producers have to be well informed about steps and rules to be followed and be supervised by veterinarians in order to increase their success rate in stabilizing their herd and minimizing potential impact on neighbourhood. Otherwise, individual and regional control programs for PRRSV are likely to fail.

Implications

- Gilt replacement strategies suffered from several breaches that could contribute to introduction or re-circulation of PRRSV within the sow herd. These problems should be addressed to facilitate PRRSV management at the farm level.
- Breeding sites would benefit greatly of improving their acclimatization techniques. Producers should be informed about steps and rules to comply with in order to increase the success rate of the procedure in the field and also to minimize the potential impact on neighbourhood.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FQRNT), the Fédération des producteurs de porcs du Québec (FPPQ), the Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec (CDAQ), the Centre d'insémination porcine du Québec (CIPQ) and many other swine industry partners for project

funding. Special thanks to practicing veterinarians for encouraging producers to participate to the study and to all producers for their time and interest they manifested toward the project.

References

1. Neumann EJ, Kliebenstein JB, Johnson CD, Mabry JW, Bush EJ, Seitzinger AH, Green AL, Zimmerman JJ. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J Am Vet Med Assoc.* 2005;227:385-392.
2. Christianson WT, Joo HS. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a review. *J Swine Health Prod.* 1994;2:10-28.
3. Yoon KJ, Hoo HS, Christianson WT, Morrison RB, Dial GD. Persistent and contact infection in nursery pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J Swine Health Prod.* 1993;4:5-8.
4. Wills RW, Zimmerman JJ, Yoon KJ, Swenson SL, Hoffman LJ, McGinley MJ, Hill HT, Platt KB. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: routes of excretion. *Vet Microbiol.* 1997;57:69-81.
5. Otake S, Dee SA, Rossow KD, Moon RD, Pijoan C. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes, *Aedes vexans* (Meigen). *Can J Vet Res.* 2002;66:191-195.
6. Otake S, Dee SA, Rossow KD, Deen J, Molitor TW, Pijoan C. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *J Swine Health Prod.* 2002;10:59-65.
7. Otake S, Dee SA, Jacobson L, Torremorell M, Pijoan C. Evaluation of aerosol transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus under controlled field conditions. *Vet Rec.* 2002;150:804-808.
8. Otake S, Dee S, Rossow KD, Joo HS, Deen J, Molitor TW, Pijoan C. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by needles. *Vet Rec.* 2002;150:114-115.
9. Kranker S, Nielsen J, Bille-Hansen V, Botner A. Experimental inoculation of swine at various stages of gestation with a Danish isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet Microbiol.* 1998;61:21-31.
10. Wills RW, Zimmerman JJ, Yoon KJ, Swenson SL, McGinley MJ, Hill HT, Platt KB, Christopher-Hennings J, Nelson EA. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a persistent infection. *Vet Microbiol.* 1997;55:231-240.
11. Mousing J, Permin A, Mortensen S, Botner A, Willeberg P. A case-control questionnaire survey of risk factors for porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) seropositivity in Danish swine herds. *Vet Microbiol.* 1997;55:323-328.

12. Prieto C, Alvarez E, Martinez-Lobo FJ, Simarro I, Castro JM. Similarity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains to vaccine strain is not necessarily predictive of the degree of protective immunity conferred. *Vet J.* 2008;175:356-363.
13. Pesente P, Rebonato V, Sandri G, Giovanardi D, Ruffoni LS, Torriani S. Phylogenetic analysis of ORF5 and ORF7 sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) from PRRS-positive Italian farms: a showcase for PRRSV epidemiology and its consequences on farm management. *Vet Microbiol.* 2006;114:214-224.
14. Lager KM, Mengeling WL, Brockmeier SL. Evaluation of protective immunity in gilts inoculated with the NADC-8 isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and challenge-exposed with an antigenically distinct PRRSV isolate. *Am J Vet Res.* 1999;60:1022-1027.
15. Meng XJ. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Vet Microbiol.* 2000;74:309-329.
16. Dee SA, Joo H, Pijoan C. Controlling the spread of PRRS virus in the breeding herd through management of the gilt pool. *J Swine Health Prod.* 1995;3:64-69.
17. Dee SA. Principles of prevention, control and eradication. In: Zimmerman JJ, Yoon KJ, eds. *2003 PRRS Compendium. 2nd ed.* Des Moines, Iowa: National Pork Board; 2003:78-87.
18. Nilubol D, Thacker B. The introduction of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) seronegative replacements into PRRSV-seropositive herds. *Thai J. Vet. Med.* 2002;32 (Suppl):107-112.
19. Vashisht K, Erlandson KR, Firkins LD, Zuckermann FA, Goldberg TL. Evaluation of contact exposure as a method for acclimatizing growing pigs to porcine reproductive and respiratory syndrome. *J Am Vet Med Assoc.* 2008;232:1530-1535.
20. Giovanardi D, Pesente P, Sperati Ruffoni L, Sandri GP, Campagnari E, Motta C. A testing procedure to evaluate gilt's PRRSV acclimatization. *Proc Int Symp Emerging Re-emerging Pig Dis.* 2003;Rome:121-122.
21. MAPAQ. FLORA: Identification and registration of Quebec pig herds (data consulted in February 2010). *Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ).* Québec, Canada: 2010.
22. Larochelle R, D'Allaire S, Magar R. Molecular epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Quebec. *Virus Res.* 2003;96:3-14.

23. Albina E, Leforban Y, Baron T, Plana Duran JP, Vannier P. An enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Ann Rech Vet.* 1992;23:167-176.
24. Schaefer N, Morrison R. Effect on total pigs weaned of herd closure for elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Swine Health Prod.* 2007;15:152-155.
25. Dee SA, Deen J, Otake S, Pijoan C. An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *Can J Vet Res.* 2004;68:128-133.
26. Weigel RM, Firkins LD, Scherba G. Prevalence and risk factors for infection with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) in swine herds in Illinois (USA). *Vet Res.* 2000;31:87-88.
27. Cuartero L, Dee S, Deen J, Ruiz A, Pijoan C. Association between clinical signs and high serum titers of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in nursery pigs under field conditions. *J Swine Health Prod.* 2002;10:118-121.
28. Batista L, Pijoan C, Torremorell M. Experimental injection of gilts with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) during acclimatization. *J Swine Health Prod.* 2002;10:147-150.
29. Batista L, Dee SA, Rossow KD, Deen J, Pijoan C. Assessing the duration of persistence and shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large population of breeding-age gilts. *Can J Vet Res.* 2002;66:196-200.
30. Otake S, Dee S, Corzo C, Oliveira S, Deen J. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet Microbiol.* 2010;145:198-208.
31. Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC. Clinical effects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on pigs during the early postnatal interval. *Am J Vet Res.* 1998;59:52-55.
32. Christopher-Hennings J, Nelson EA, Nelson JK, Benfield DA. Effects of a modified-live virus vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in boars. *Am J Vet Res.* 1997;58:40-45.
33. Mengeling WL, Vorwald AC, Lager KM, Brockmeier SL. Comparison among strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause reproductive failure. *Am J Vet Res.* 1996;57:834-839.

34. Barrington GM, Allen AJ, Parish SM, Tibary A. Biosecurity and biocontainment in alpaca operations. *Small Rumin. Res.* 2006;61:217-225.
35. Shi M, Lam TT, Hon CC, Murtaugh MP, Davies PR, Hui RK, Li J, Wong LT, Yip CW, Jiang JW, Leung FC. Phylogeny-based evolutionary, demographical, and geographical dissection of North American type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *J Virol.* 2010;84:8700-8711.
36. Kiss I, Sami L, Kecskemeti S, Hanada K. Genetic variation of the prevailing porcine respiratory and reproductive syndrome viruses occurring on a pig farm upon vaccination. *Arch Virol.* 2006;151:2269-2276.

Tables

Table I. Descriptive statistics on characteristics of breeding sites according to the type of purchase of gilts (120 sites; May 2005-August 2008)

Characteristics of sites	Type of purchase			
	No purchase ^b n=44	Immature ^c n=34	Mature ^d n=42	Total n=120
Continuous variable (median, Q1-Q3)				
Number of productive sows	^a 158 (108-225)	240 (150-450)	228 (170-470)	196 (139-333)
Categorical variables (n)				
Production type	^a			
Farrow-to-wean	2	5	17	24
Farrow-to-grow	3	0	10	13
Farrow-to-finish	39	29	15	83
Ownership	^a			
Independent producer	44	30	34	108
Contract producer	0	4	8	12

^a Significant association between characteristic of the site and type of purchase of gilts ($P \leq 0.05$, Pearson exact chi-square test or Wilcoxon rank sum exact test as appropriate)

^b Self-replacement

^c Purchased from external source at a weight of <95 kg

^d Purchased from external source at a weight of ≥ 95 kg

Table II. Descriptive statistics on gilt introduction strategies used in PRRSV positive (n=102) and negative (n=18) breeding sites according to the type of purchase of gilts (120 sites; May 2005-August 2008)

Gilt introduction strategies	Type of purchase			
	No purchase ^a	Immature ^b	Mature ^c	Total
PRRSV negative sites	n=7	n=3	n=8	n=18
Self-replacement ^a	7	0	0	7
Isolation ^d	0	0	3	3
Acclimatization ^e	0	3	2	5
Introduction directly into the sow herd ^g	0	0	3	3
PRRSV positive sites	n=37	n=31	n=34	n=102
Self-replacement ^a	37	0	0	37
Isolation ^d	0	2	14	16
Acclimatization ^f	0	29	15	44
Introduction directly into the sow herd ^g	0	0	5	5

^a Self-replacement

^b Purchased from external source at a weight of <95 kg

^c Purchased from external source at a weight of ≥95 kg

^d Period without exposure to endemic PRRSV strain

^e Period with exposure to endemic pathogens (except PRRSV)

^f Period with exposure to endemic PRRSV strain

^g Introduction of gilts in the same air space than the sow herd, without isolation or acclimatization

Table III. Descriptive statistics on parameters of acclimatization process of gilts using contact with live animals in PRRSV positive sites (41 sites; May 2005-August 2008)

Parameters of acclimatization process	Type of purchase			Total n=41	
	Immature n=27		Mature n=14		
Exposure					
Number of sites with exposure (n)	27	a	14	a	41
Median exposure time (wk)	20	a	7	b	17
Cool down					
Number of sites with cool down (n)	12	a	2	a	14
Median cool down time (wk)	12	a	4	a	10

^{a,b} For each parameter, values within rows or proportions of sites within categories with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$) between breeding sites purchasing mature or immature gilts by the Pearson exact chi-square test or the Wilcoxon rank exact sum test as appropriate

Table IV. Descriptive statistics on characteristics of breeding sites and gilt management in a moderate (MD) and high (HD) density area, Quebec, Canada (120 sites; May 2005-August 2008)

Characteristics of sites and gilt management	Breeding sites	
	MD n=52	HD n=68
Continuous variable (median)		
Number of productive sows	232 ^a	175 ^b
Categorical variables (%)		
Production type		
Farrow-to-wean	21	19
Farrow-to-grow	14 ^a	9 ^a
Farrow-to-finish	65	72
Ownership		
Independent producer	92 ^a	88 ^a
Contract producer	8	12
Gilt purchased from external source		
No ^c	25 ^a	46 ^b
Yes	75	54
Type of purchased gilts ^d		
Immature (<95 kg)	44 ^a	46 ^a
Mature (≥95 kg)	56	54
PRRSV status		
Negative	26 ^a	6 ^b
Positive	74	94
Gilt introduction strategies for purchased gilts in PRRSV positive sites ^e		
Isolation	14	32
Acclimatization	82 ^a	57 ^a
Direct introduction	4	11
PRRSV commercial vaccination of gilts and/or sows		
No	75 ^a	66 ^a
Yes	25	34
Exposure of gilts to PRRSV in PRRSV positive sites ^f		
No	32 ^a	37 ^a
Yes	68	63

^{a,b} For each variable, values within rows or proportions of sites within categories with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$) between breeding sites in MD and in HD area by the Pearson exact chi-square test or the Wilcoxon rank sum test as appropriate

^c Self-replacement

^d Computed on 76 sites purchasing gilts; 39 in Estrie and 37 in Monteregion

^e Computed on 65 sites; 28 in Estrie and 37 in Monteregion

^f Exposure referring to acclimatization with herd PRRSV endemic strain and/or commercial vaccination of gilts; computed on 102 sites; 38 in Estrie and 64 in Monteregie

Figures

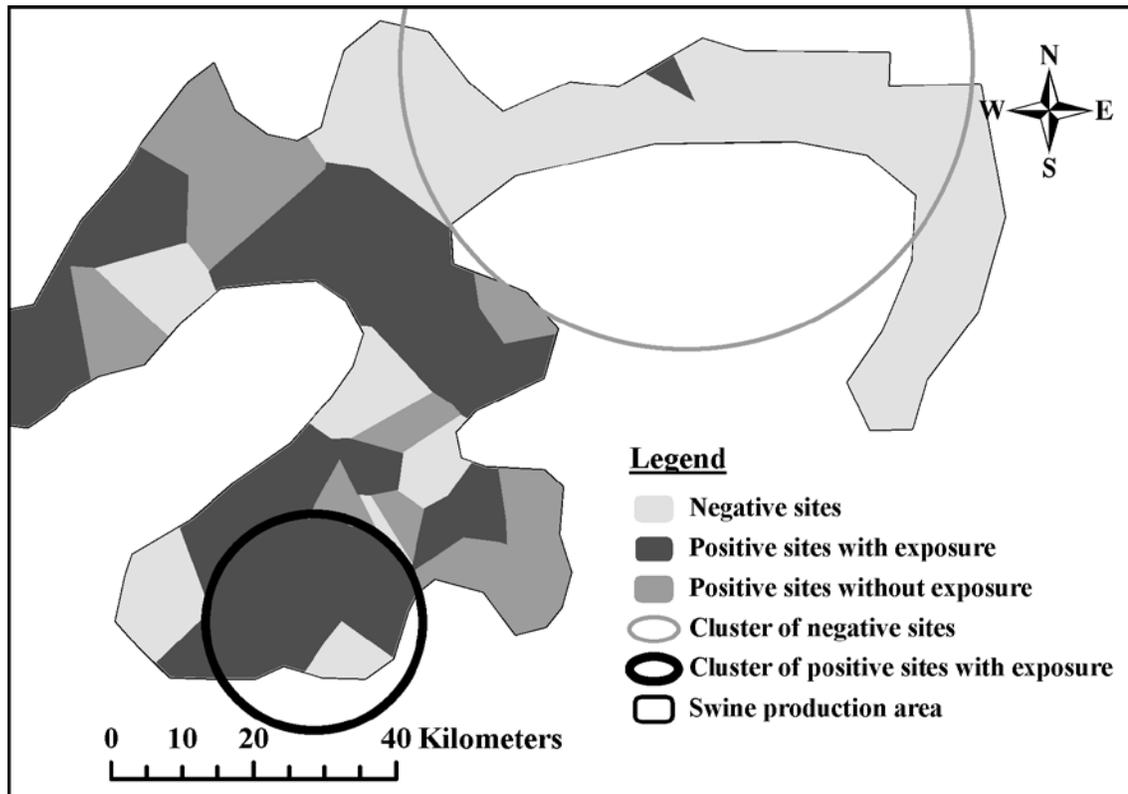


Figure 1. Geographical distribution of sites in the moderate density (MD) area according to their PRRSV status and the use of voluntary gilt exposure to wild-type or vaccine PRRSV strain in PRRSV positive sites.

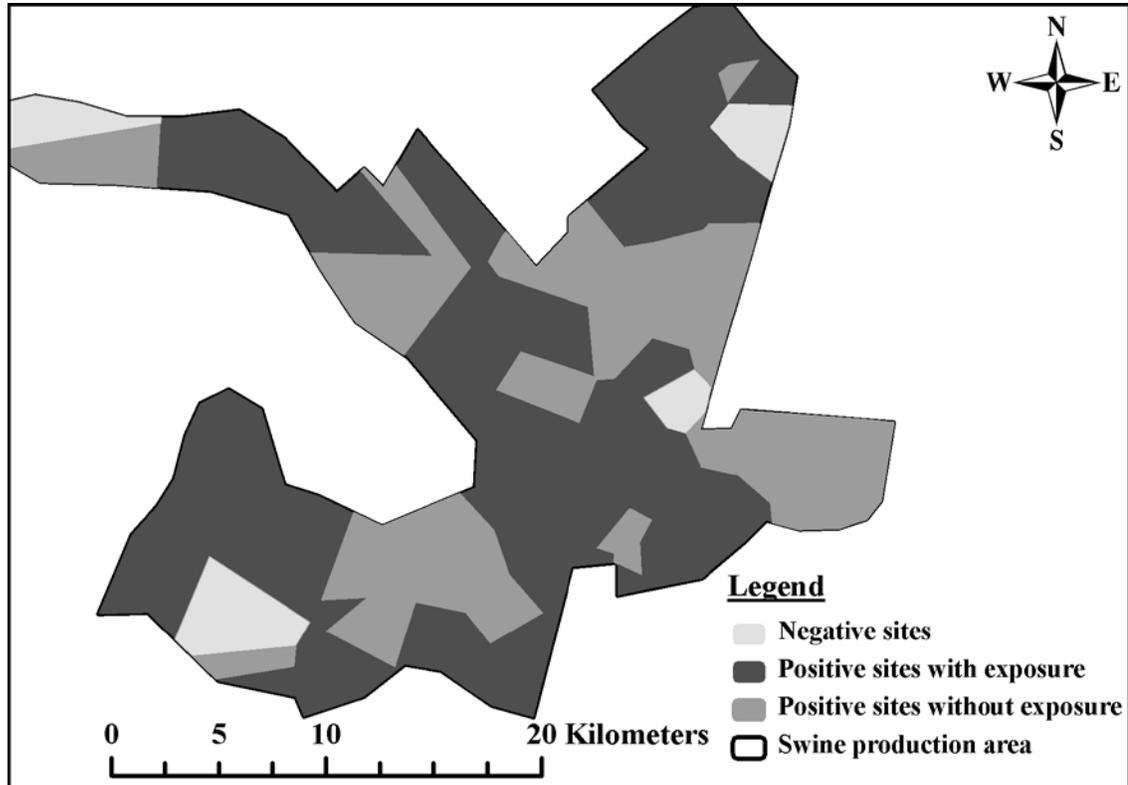


Figure 2. Geographical distribution of sites in the high density (HD) area according to their PRRSV status and the use of voluntary gilt exposure to wild-type or vaccine PRRSV strain in PRRSV positive sites.

Chapitre 2

Epidemiological investigations in regard to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) control in Quebec, Canada

Part 1: Descriptive study on biosecurity practices and their geographical distribution in a high and a moderate density of swine production area

Marie-Ève Lambert^a, Zvonimir Poljak^b, Julie Arsenault^a and Sylvie D'Allaire^a

^aFaculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, St. Hyacinthe, Quebec, Canada

^bDepartment of Population Medicine, Ontario Veterinary College, University of Guelph, Ontario, Canada

Article soumis aux fins de publication dans la revue:

Preventive Veterinary Medicine

Abstract

Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) is a considerable threat to the swine industry and implementing biosecurity measures is essential for the control of its transmission. The aims of this study were: 1) to describe biosecurity practices in production sites located in a moderate density (MD) and a high density (HD) pig area according to production type; 2) to group sites in different patterns according to their biosecurity practices; and 3) to determine the geographical distribution of sites according to biosecurity patterns. Biosecurity practices were selected based on PRRS epidemiology. A questionnaire was completed on 125 breeding sites (MD=54; HD=71) and 120 growing (HD) sites, between 2005 and 2008. Depending on area and production type, the frequency of biosecurity practices used ranged from 0%-2% for barrier at site entrance, 0%-19% for use of shower, 25%-35% for washing truck between loads of pigs, 51%-57% for absence of rendering or rendering without access to the site, and 26%-51% for no purchase of gilts or purchase with quarantine. Better practices pertaining to entrance protocol were reported more frequently on breeding sites in the MD area than the HD area ($P < 0.05$, Pearson exact chi-square), and included a "no-entry" sign, shower, and ≥ 24 hour downtime. In the HD area, growing sites had in general a lower level of biosecurity than breeding sites. Sites were grouped according to biosecurity practices using the two-step clustering procedure, performed separately for breeding and growing sites. Two different patterns were obtained for each production type, which corresponded to a high and low level of biosecurity. At breeding sites, a higher biosecurity pattern was observed at sites located further from other pig sites and at more than 300 m from the public road, having higher sow inventory, and being part of an integrated production ($P < 0.05$). Spatial clusters of sites for each biosecurity pattern were detected. This study identified some shortcomings regarding biosecurity that should be addressed at the farm level before implementing any PRRSV regional control. Vicinity of sites with different biosecurity patterns or production types also suggests difficulties in planning priorities of intervention based on geographical distribution of sites.

Keywords: Biosecurity; Pigs; Porcine reproductive and respiratory syndrome; PRRS; Spatial.

1. Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is a viral disease that has a major economic impact on the swine industry (Neumann et al., 2005). PRRS virus (PRRSV) causes late-term abortions and stillbirths, mummified or weak piglets in breeding phases and it also induces respiratory problems, impairs growth performance and increases mortality in weaner-finisher phases (Christianson and Joo, 1994). Several direct and indirect pathways are likely involved in transmission of PRRSV between herds, including the introduction of infected animals or semen, transport vehicles, aerosols, flying insects, waterfowl and fomites (Le Potier et al., 1997; Zimmerman et al., 1997; Dee et al., 2002; Mortensen et al., 2002; Otake et al., 2002; Dee et al., 2004b; Otake et al., 2004; Dee et al., 2009).

In Quebec, approximately 7 million pigs are slaughtered annually. Two thirds of swine production is concentrated in three administrative regions (Monteregie, Centre-du-Quebec, Chaudiere-Appalaches). The high density of production in these regions and proximity with neighbouring pig sites make the swine industry particularly vulnerable to transmission of PRRSV or other respiratory diseases (Stärk et al., 1992; Flori et al., 1995; Mortensen et al., 2002; Holtkamp et al., 2010). This can facilitate the area spread of PRRSV through limited-distance mechanisms (e.g. aerosols, flying insects etc.) or through an increased frequency of indirect contact via vehicles or people involved in the swine industry (Ribbens et al., 2009). In Quebec, these movements are further augmented by a multi-site production system—a structure introduced 20 years ago to facilitate segregated early weaning strategies. Implemented to limit the transmission of pathogens from sow to piglets, the procedure unfortunately had the effect of increasing movement of pigs between premises, thus ultimately encouraging dissemination of pathogens (D'Allaire, 2000).

Biosecurity is highly recommended to limit the introduction of pathogens like PRRSV in a herd. It is defined as procedures, efforts and programmes established to reduce the risk of new disease introduction (external biosecurity) or to slow down the transmission of endemic pathogens into populations (internal biosecurity) (Amass and Clark, 1999; Dargatz et al., 2002; Barrington et al., 2006; Gunn et al., 2008). Very few observational studies have been conducted to evaluate associations between specific biosecurity practices on the farm and PRRSV health status (Mortensen et al., 2002; Evans et al., 2008; Holtkamp et al., 2010). However, the risk of

PRRSV introduction on a production site is likely to be influenced by these measures, since mechanical transmission of PRRSV has been shown experimentally to occur through pig transportation or through fomites carried by people entering the unit (Dee et al., 2002; Dee et al., 2004a; Dee et al., 2004b; Dee et al., 2007). Consequently, the success of PRRSV control is likely to depend on biosecurity implementation. Likewise, knowledge of the current biosecurity measures is essential in order to target priorities for the industry in terms of improving practices or to evaluate efforts needed before implementing a PRRSV regional control program.

The aims of this study were: 1) to describe biosecurity practices according to production type in sites located in two geographical areas of different swine density; 2) to group sites into patterns according to their biosecurity practices; and 3) to determine the geographical distribution of sites according to biosecurity patterns from the perspective of designing PRRSV regional control.

2. Materials and methods

2.1. Study design and source population

As part of a larger study on the transmission and control of PRRSV, we conducted a cross-sectional study to describe biosecurity practices in sites located in two regions of Quebec between May 2005 and August 2008. A high density (HD) area was selected, which corresponded to 10 adjacent municipalities (354 pigs/km², FLORA: Identification and registration database of swine production sites in Quebec (MAPAQ, 2010)), located in the Monteregie administrative region, where all types of production were included. A moderate density (MD) area was also selected (44 pigs/km² (MAPAQ, 2010)), corresponding to the Estrie region of Quebec, in which only sites housing sows were included in our source population. This entire region was selected in order to obtain a comparable number of breeding sites in both areas. Weaners and finishers were not included in this latter area due to limited resources available for the study.

The unit of interest was the production site, defined as one or more barns located within 300 m of each other, belonging to the same owner (individual or corporate) and having the same animal source(s). In order to select sites, all producers listed in the Quebec Federation of Pork Producers (FPPQ) database and included in the source population were contacted. A written description of the project and a participation form to be signed and returned were initially sent to them; participation was on a voluntary basis. In the absence of a response or with a refusal, producers were contacted by phone to seek their participation or to inquire into the reasons for the refusal. Because the objective of the broader study was to evaluate risk factors for PRRS, only sites for which PRRSV status could be established were considered.

2.2. Questionnaire

A questionnaire with mainly semi-closed questions was developed to assess potential risk factors previously mentioned in the literature for introduction of PRRSV on a production site. Four veterinarians specialized in swine production and three producers were consulted to assess relevance, clarity and completeness of questions. The questionnaire was filled out by the first author during 45 minute live interviews with the owners of independent farms or with employees under contract. When it was absolutely impossible to perform live interview (mainly because the producer was not available on the site), the questionnaire was completed during a phone interview. Information was gathered on type of production, ownership, pig inventory, pig flow, distance from the public road and the closest pig site (approximated by the producer) (Table V). Geographical coordinates of the site (latitude/longitude) were obtained using a global positioning system (GPS). Data were also obtained on specific external biosecurity measures that can be implemented on the site by the producer which covered about 20 variables related to: layout of the site, entrance protocol, transportation of animals, dead pig disposal, pest and manure management and deliveries of feed, semen and gilts (Table VI). All questions pertained to practices at the time of questionnaire completion with the exception of questions regarding gilt purchases (previous six months). When a biosecurity practice was reported as only partially applied, it was considered that the measure was not applied. The questionnaire in French is available upon request from the first author.

2.3. Statistical analyses

2.3.1. Descriptive statistics

Data validation and descriptive statistics were performed in the SAS system (SAS Institute Inc., version 9.1, Cary, NC, USA). For the purpose of the analyses, sites were divided into two production types: breeding (farrowing, farrow-to-wean, farrow-to-finish, boar stud) and growing sites (weaner, weaner-to-finish, finishers for commercial pigs or gilt replacement). Differences in characteristics (herd management, neighbours, biosecurity practices) of breeding sites between the MD and HD area were assessed using Pearson exact chi-square test for categorical variables ($\alpha=0.05$) or Wilcoxon rank sum test for continuous variables ($\alpha=0.05$). These characteristics were also compared between breeding and growing sites in the HD area.

2.3.2. Two-step cluster analyses

Sites were grouped according to their pattern of biosecurity practices using a two-step clustering procedure (SPSS, SPSS Inc., version 16.0, Chicago, IL, USA). This two-step cluster analysis is an agglomerative hierarchical clustering technique that can be used as an exploratory tool to reveal natural groupings within a dataset (SPSS 15.0, help manual). For the analysis, sites represented objects to be clustered and biosecurity variables, the attributes upon which the clustering is based. In the first step of the algorithm, sites are pre-clustered into small sub-clusters. The software scans the data records one by one and decides if the site should be merged with previously formed clusters or introduced into a new cluster. The distance between two clusters is related to the decrease in the log-likelihood as they are combined into one cluster. In the second step, the sub-clusters previously identified are grouped hierarchically into clusters to assess multiple cluster solutions in one run. The two-step clustering procedure offers the advantage to automatically select the optimal number of clusters (Chiu et al., 2001). The number of informative clusters (patterns) is based on minimizing the ratio of change in Schwarz's Bayesian information criterion (BIC); this information criteria being provided for each cluster solution. Grouping of sites was done separately for breeding and growing sites since some variables were highly correlated with production type. Before performing each clustering analysis, sites were randomly order to minimize potential order effect. Variables were excluded from the analysis if they had more than 10% missing values. Other missing values were imputed using the mode of the observed distribution by production type. The concordance between patterns allocated to sites with and without using imputation was

assessed using kappa coefficient calculated for sites with no missing data. Differences in characteristics (herd management, neighbours, biosecurity practices) between biosecurity patterns were assessed using Pearson exact chi-square statistic ($\alpha=0.05$) or Wilcoxon rank sum test ($\alpha=0.05$), performed separately for breeding and growing sites in order to described variables associated or not to biosecurity patterns.

2.3.3. Spatial analyses

The biosecurity pattern attributed to each site was geographically interpolated for each production type using Thiessen Polygon method (ArcGIS, Esri, version 9.3, Redlands, CA, USA) to preserve confidentiality of data. The area perimeter was hand-defined in order to produce a compact zone comprising all sites and excluding areas having no site. A small gap was allowed between sites and the perimeter. Geographical clusters of sites for each biosecurity pattern were detected using the Spatial Scan Test (SaTScan, version 8.0, Boston, MA, USA), based on a purely spatial Bernoulli distributional assumption model and scanning for circular clusters with a maximal population threshold of 50%. These spatial analyses were performed to determine if specific zones of lower or higher biosecurity pattern could be identified to help prioritize zones in which biosecurity should first be enhanced. Analyses were run separately for both areas and for each biosecurity pattern seeking high risk of cases; cases being defined as sites grouped into a specific biosecurity pattern and controls as all remaining sites. In the HD area, another analysis using the same procedure was also performed combining biosecurity patterns of breeding and growing sites to visualise the effort needed to manage both types of production on the territory. The statistical significance of clusters was determined through 9999 permutations and the most likely significant cluster ($P \leq 0.05$) was mapped (ArcGIS 9.3). To avoid confusion throughout the article, we will refer to groups resulting from the multivariate biosecurity classification as patterns and to spatial clusters as clusters.

3. Results

A total of 306 producers listed in the FPPQ database were contacted for participation in the study. Among these producers, 30 were excluded due to the absence of swine production or of the targeted production type (MD only), 34 producers refused to participate due to a lack of interest or time, and 29 were unreachable. Participation was obtained for 77% of the producers

and resulted in the inclusion of 191 sites (1 boar stud, 70 breeding and 120 growing sites) in the HD area and 54 breeding sites in the MD area. All questionnaires were filled out during live interviews with the exception of 8% of the sites.

3.1. Description of biosecurity practices

Descriptive statistics for herd characteristics, neighbourhood characteristics, and specific biosecurity practices according to area and production type are presented in Table V and VI. Following data exploration, some variables pertaining to quality of insect or rodent control, access to carcasses by wild or domestic animals, manure equipment used for spreading, and presence and use of a loading bay for shipping were excluded from subsequent analyses as they were more subjective or were not enough precise for interpretation. Some biosecurity measures were reported with a low frequency as those regarding the layout of the site and the hygiene level for the entrance protocol (Table VI). Respect of a clear separation between clean and contaminated zones for people entering the unit (n=49) was combined with shower-in or washing hands in 24% and 22% of the sites, respectively. In terms of sites with more than one building (n=93), changing boots and coveralls between units was required on 68% and 54% of the sites, respectively. Incinerating (33%), burying (42%) and composting (25%) were used as dead pig disposal in absence of rendering. On sites using rendering, carcasses were picked-up at 30 m or less from the closest unit on 50% of the sites. No site was under air filtration.

In breeding sites, a higher frequency of biosecurity practices was observed in the MD compared to the HD area for measures pertaining to the entrance protocol for people, transportation of pigs, and dog or cat access to unit(s) (Table VI). However, greater proportions of sites not purchasing replacement gilts and prohibiting access to unit by feed delivery personnel were observed in the HD area. In the HD area, growing sites had in general a lower biosecurity level compared to breeding sites, mainly relating to parking areas for vehicles, some elements of the entrance protocol for people, and pig transportation. However, growing sites showed better practices for door locking and domestic animal access to unit(s).

3.2. Grouping sites into patterns according to their biosecurity practices

The two-step clustering procedure grouped the sites into two categories for breeding and growing sites. No variable had to be removed from the dataset for having more than 10% missing values. Seven missing data were imputed for breeding sites and 12 for growing sites. A good agreement was obtained for the grouping with and without imputation ($\kappa=0.79$). Some herd and neighbourhood characteristics were associated with the biosecurity patterns of breeding or growing sites (Table VII). In MD and HD area, 22 (41%) and 19 (27%) sites were classified in pattern B, respectively. No significant association ($P=0.12$) was found between biosecurity patterns of breeding sites and area (Table VII). Biosecurity patterns obtained for breeding and growing sites are described in Table VIII. Breeding sites were classified into patterns A and B, which were 67% and 33%, respectively. Compared to pattern A, sites included in pattern B always reported similar or higher frequency of advisable biosecurity measures, with the exception of purchase of gilt practices. Table VIII shows which variables were significantly associated with the biosecurity patterns obtained. Growing sites were classified into patterns C and D, which were 56% and 44%, respectively. Similar or better practices were reported for sites belonging to pattern D, with the exception of dead pig disposal and employees having contact with pigs from external sources.

3.3. Geographical distribution of sites according to biosecurity patterns

Figures 3 and 4 show the geographical distribution of breeding sites according to biosecurity patterns in the MD and HD area, respectively. A significant spatial cluster ($P=0.05$) involving 11 sites with a lower biosecurity pattern (A) within a 15.8 km radius was identified in the south of the MD area. No significant spatial aggregate was detected among breeding sites in the HD area. Figure 5 shows the spatial distribution of biosecurity patterns (C vs. D) among growing sites located in the HD area. A cluster of sites ($P=0.02$) belonging to the lower biosecurity pattern (C) was located in the south-eastern part of the production area, having a radius of 6.2 km and comprising 32 production sites, of which 27 fell into pattern C. Another spatial cluster ($P=0.02$) identified among sites grouped in the higher biosecurity pattern (D) was located on the north-western section of the area, had a radius of 30.7 km and included 38 sites, of which 27 were grouped into pattern D. Finally, combining the higher (B and D) and the lower (A and C) biosecurity patterns, two spatial clusters were observed in the south-eastern part of the HD

area (Figure 6). The first 2.7 km-radius cluster ($P=0.01$) represented 9 sites grouped into the higher biosecurity patterns whereas the second 9.8 km-radius cluster ($P=0.04$) included 58 sites and had 48 grouped into the lower biosecurity patterns.

4. Discussion

Although most sites had several biosecurity practices in place, further enhancement of preventive measures is advisable to decrease the risk of disease introduction in herds. Layout—such as a fence surrounding the site, a closed barrier at the entrance, and distance from the parking area—was not appropriate on most sites and allowed a greater proximity of vehicles or unauthorized people to the barn. Both are known as mechanical vectors for PRRSV and are also responsible for high frequency of indirect contact between pig farms (Bates et al., 2001; Dee et al., 2002; Pitkin et al., 2009; Ribbens et al., 2009). Some farms had rather low standards regarding entrance protocol. Usually, entrance to the building represents the last physical barrier to people where the producer can prevent disease introduction within the unit. A shower-in protocol or at least washing hands combined with a change of boots and coveralls respecting clean and contaminated entrance zones are also advisable procedures to avoid mechanical fomite transmission. The usefulness of good entrance practices for people has been well documented for PRRS and other diseases (Elbers et al., 2001; Amass et al., 2004; Dee et al., 2004a; Holtkamp et al., 2010; Pitkin et al., 2010). The low frequency of good practices regarding entrance protocol was perhaps due to the frequent, constant effort required by everyone entering the unit (Wurtz et al., 1994). Some weaknesses were also observed for pig transportation regarding truck washing, possibly because of an insufficient number of washing stations in these two areas. This could contribute to pathogen contamination of the site by truck wheels or by aerosols when a truck loaded with pigs is allowed too close to the unit (Dee et al., 2002; Otake et al., 2010). This risk is further increased by a high proportion of producers using rendering for dead pig disposal and authorizing free access to the main entrance of the site by the truck. Also, in some instances, the distance between the unit and the carcass pick-up bin was quite short (30 m), as previously observed by Boklund et al. (2004). The use of rendering for carcass disposal and the number of rendering plant lorries entering the farm have been identified as risk factors for other diseases (Rose and Madec, 2002; McQuiston et al., 2005). In contrast, a high level of compliance was observed for pest control. Easier daily implementation, concerns about damage caused by rodents or birds to infrastructure, or a

greater awareness of the risk of disease transmission through animal pest vectors may explain this observation.

Compared to the MD area, disease management in the HD area may constitute a greater challenge due to greater proximity of herds to public roads and neighbours, two problems that have been reported in high livestock density areas (Vieira et al., 2009). Proximity of pig sites and density of neighbouring pig herds are reported as important risk factors for PRRS (Mortensen et al., 2002; Holtkamp et al., 2010), perhaps due to an intensification of PRRSV spread through limited-distance pathways of transmission such as aerosols, insects or through a higher frequency of indirect contact by vehicles or people involved in the swine industry (Rose and Madec, 2002; Otake et al., 2004; Ribbens et al., 2009; Otake et al., 2010). Paradoxically, breeding sites located in the HD area had in general lower standards of biosecurity, as has been observed in other countries (Rose and Madec, 2002), and this may further increase their risk of becoming infected. It is possible that producers located in the HD area had already given up following simple biosecurity measures in response to the very high prevalence of PRRSV positive sites (Lambert, 2011). Moreover, differences observed could partly be attributed to higher sow inventory on sites located in the MD region since better biosecurity requirements and greater awareness of disease prevention were previously reported among managers of larger herds compared to smaller ones (Boklund et al., 2003; Ribbens et al., 2008; Noremark et al., 2009). Regional differences in training, technical support, type and age of infrastructure could also exist. The high frequency of sites not purchasing gilts in the HD area may be associated with the high proportion of herds infected with PRRSV, since one method of controlling PRRSV is to close the herd to reduce viral circulation and stabilize infections within the breeding herd (Schaefer and Morrison, 2007). However, the economic losses due to PRRSV in these infected herds might also have precluded the purchase of replacement gilts (Neumann et al., 2005).

In the HD area, a lower level of biosecurity was observed on growing compared to breeding sites. This is possibly related to a higher frequency of all-in all-out (AIAO) flow by site or unit for growing sites, which may account for a certain laxity in other biosecurity requirements. With this type of pig flow, consequences of a PRRSV outbreak would be more limited in time and thus producers may not fully appreciate the benefits of implementing stringent requirements (Harris and Alexander, 1999). Compared to breeding sites, growing sites also

have more chances to receive pigs from a high number of sources and different PRRSV status, which could dissuade them to implement biosecurity on their site. Growing sites would benefit from strict measures for transportation since they are in general exposed to a high number of movements on and between farms (Ribbens et al., 2009). Moreover, employees working on growing sites in our study had a high risk of contact with external sources of pigs from other sites or farms, pig transportation or slaughterhouses, emphasizing the importance of good entrance protocol for visitors and employees.

Breeding sites in pattern B showed generally equivalent or higher biosecurity standards compared to pattern A (Table VIII), similar to findings obtained for growing sites regarding the comparison of pattern D versus C. The higher biosecurity pattern observed in sites with larger inventories may be partly accounted for by a greater awareness of risk or consequences of disease introduction (Boklund et al., 2003; Noremark et al., 2009). Indeed, larger breeding herds have a high frequency of contact through pig, vehicle or employee movements, but once the disease is introduced, they are also susceptible to longer within-herd persistence than smaller herds are (Bates et al., 2001; Ribbens et al., 2009; Evans et al., 2010). Farrowing and weaner production types were more frequently observed in the higher biosecurity pattern. It could be assumed that as a consequence of the advent of early weaning and multi-site production in Quebec, these sites could have more modern infrastructure allowing easier implementation of biosecurity (D'Allaire, 2000) and might have adopted better biosecurity practices to avoid potential economic impact of disease introduction on piglet sales in later stages of production. Integrated swine production systems were also associated with higher biosecurity pattern (B) of breeding sites, possibly due to some policies from the company or to particular training and awareness of personnel. Other studies in general report higher biosecurity standards than those in our study but they were mainly performed on integrated pig farms which would corroborate our findings, at least for breeding herds (Pinto and Urcelay, 2003; Casal et al., 2007). In both areas, the higher biosecurity pattern was more frequent in breeding sites located farther from the closest pig site or at more than 300 m from public roads. This could be explained by recent business where managers consider biosecurity as a whole, which would include farm location as well as specific biosecurity practices.

Characterizing biosecurity patterns of sites may help to target interventions according to the level of biosecurity observed within each pattern but also to their respective geographical

distribution. Spatial clusters of sites grouped in the lower biosecurity pattern revealed zones for which significant improvement in basic biosecurity practices is needed. On the contrary, a spatial cluster of sites belonging to the higher biosecurity pattern could be interpreted as zones in which producers are more inclined to reduce the risk of disease introduction and possibly be more willing to work toward regional control or elimination of disease. Compared to the MD area, biosecurity patterns of breeding sites were randomly distributed in the HD area (Figure 4), making priorities for changes impossible to determine based on geographical distribution of sites. Furthermore, simultaneously analyzing breeding and growing sites in the HD area from a global perspective (Figure 6) resulted in further problems in addressing priorities since high and low biosecurity clusters were in the vicinity of each other.

Although some producers did not agree to participate in the survey, some of the ones who could not be reached might have been out of business, resulting in an underestimated the participation. The FPPQ list from which the producers were selected only records those having more than \$5000 of annual income from agriculture; thus very small or hobby farms were unlikely to be included in our study. These small producers may have lower biosecurity levels and could represent a real threat to larger producers (Costard et al., 2009). Moreover, this investigation mostly included commercial swine operations; higher biosecurity standards are to be expected in multiplier herds.

A single interviewer completed all the questionnaires with people working directly on the site to decrease the potential for information bias. Most questions referred to the current period of time, decreasing recall bias. However, results relied on answers given by the interviewees who might have reported what was expected from them rather than what they were actually doing. To limit the extent of this possibility, confidentiality of answers was assured and the aim of the broader project, which was to assess the importance of biosecurity in relation to PRRS epidemiology, was emphasized. The assiduity with which workers and visitors executed biosecurity protocols was not monitored over time and could contribute to biasing the results toward a higher biosecurity level than what it is in reality. But this would have probably caused an overestimation of good biosecurity practices and would not affect our conclusion regarding the need to enhance preventive measures. In the opposite, a partial application of a biosecurity measure was automatically classified as the absence of the measure. Consequently, this would potentially have overestimated the amount of efforts needed for biosecurity enhancement.

The overall number of missing data of our dataset was not large compared to other descriptive studies on biosecurity (Van Steenwinkel et al., 2011). Imputation was performed to allow the inclusion of sites having missing values mainly observed on a sole variable into the two-step cluster analysis which automatically excluded sites with missing values. The intention was to benefit from all information available about other variables to perform the classification and to be able to represent all sites geographically according to their biosecurity pattern. The good kappa agreement obtained using or not imputation for both classifications confirmed that imputation did not have a considerable impact on the biosecurity patterns identified. The procedure to classify production sites according to biosecurity involved a statistical criteria (BIC) to avoid subjectivity in choosing the number of clusters, a problem often reported with hierarchical clustering (Everitt et al., 2001). This method has been previously used in other studies to address similar problems (Ribbens et al., 2008; Van Steenwinkel et al., 2011). Results obtained are dependent on participating sites and variables used to perform classification. Therefore, as this investigation of biosecurity practices was driven by PRRS epidemiology, readers should be cautious about extrapolating conclusions from our spatial clusters to regional management of other diseases. Indeed, whereas some biosecurity measures such as good hygiene protocol for people entering the farm could be beneficial against others diseases (Hald et al., 2000; Elbers et al., 2001; Amass et al., 2004), our survey did not specifically address the epidemiology of other pathogens. Furthermore, the relative impact of specific biosecurity practices on the risk of introduction of PRRSV on a site needs to be assessed in order to prioritize recommendations for enhancement of biosecurity and to ensure efficacy of regional control or elimination programs against PRRSV.

5. Conclusion

This study identified some shortcomings regarding specific biosecurity measures in two major swine production areas in Quebec that should be improved before implementing any control or elimination program against PRRSV. At the farm level, more effort to enhance specific biosecurity practices has to be made on growing compared to breeding sites and for sites located in the HD compared to MD area. Also, the vicinity of sites having different biosecurity patterns or production types will add further difficulty in prioritizing interventions in a specific geographical area. Therefore, producers and other swine industry partners should be encouraged to act jointly on disease management since collaboration is essential to the success

of any regional control approach. Currently, the relative importance of specific biosecurity practices in reducing the risk of PRRSV transmission and the principal drivers of compliance with rules are poorly understood and warrant further study.

Conflict of interest

None.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FQRNT), the Fédération des producteurs de porcs du Québec (FPPQ), the Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec (CDAQ), the Centre d'insémination porcine du Québec (CIPQ) and many other swine industry partners for project fundings. Special thanks to practicing veterinarians for encouraging producers to participate in the study. The authors would like to acknowledge the input from Dr. Martine Denicourt. Finally, our extended thanks to all producers for their time and interest in the project.

References

- Amass, S.F., Clark, L.K., 1999. Biosecurity considerations for pork production units. *J. Swine Health Prod.* 7, 217-228.
- Amass, S.F., Mason, P.W., Pacheco, J.M., Miller, C.A., Ramirez, A., Clark, L.K., Ragland, D., Schneider, J.L., Kenyon, S.J., 2004. Procedures for preventing transmission of foot-and-mouth disease virus (O/TAW/97) by people. *Vet. Microbiol.* 103, 143-149.
- Barrington, G.M., Allen, A.J., Parish, S.M., Tibary, A., 2006. Biosecurity and biocontainment in alpaca operations. *Small Rumin. Res.* 61, 217-225.
- Bates, T.W., Thurmond, M.C., Carpenter, T.E., 2001. Direct and indirect contact rates among beef, dairy, goat, sheep, and swine herds in three California counties, with reference to control of potential foot-and-mouth disease transmission. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1121-1129.
- Boklund, A., Alban, L., Mortensen, S., Houe, H., 2004. Biosecurity in 116 Danish fattening swineherds: descriptive results and factor analysis. *Prev. Vet. Med.* 66, 49-62.
- Boklund, A., Mortensen, S., Houe, H., 2003. Biosecurity in 121 Danish sow herds. *Acta Vet. Scand. (Suppl)* 100, 5-14.
- Casal, J., De Manuel, A., Mateu, E., Martin, M., 2007. Biosecurity measures on swine farms in Spain: perceptions by farmers and their relationship to current on-farm measures. *Prev. Vet. Med.* 82, 138-150.
- Chiu, T., Fang, D., Chen, J., Wang, Y., Jeris, C., 2001. A robust and scalable clustering algorithm for mixed type attributes in large database environment. In: *Proceedings of the seventh ACM SIGKDD international conference on knowledge discovery and data mining*. San Francisco, CA: ACM.
- Christianson, W.T., Joo, H.S., 1994. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a review. *J. Swine Health Prod.* 2, 10-28.
- Costard, S., Porphyre, V., Messad, S., Rakotondrahanta, S., Vidon, H., Roger, F., Pfeiffer, D.U., 2009. Multivariate analysis of management and biosecurity practices in smallholder pig farms in Madagascar. *Prev. Vet. Med.* 92, 199-209.
- D'Allaire, S., 2000. Le sevrage précoce avec ségrégation des porcelets: 10 ans après, où en sommes-nous? Les experts nous répondent. *Méd. Vét. Québec* 20, 210-213.

- Dargatz, D.A., Garry, F.B., Traub-Dargatz, J.L., 2002. An introduction to biosecurity of cattle operations. *Vet. Clin. Food. Anim.* 18, 1-5.
- Dee, S., Deen, J., Pijoan, C., 2004a. Evaluation of 4 intervention strategies to prevent the mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 68, 19-26.
- Dee, S., Deen, J., Rossow, K., Wiese, C., Otake, S., Joo, H.S., Pijoan, C., 2002. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather. *Can. J. Vet. Res.* 66, 232-239.
- Dee, S., Otake, S., Oliveira, S., Deen, J., 2009. Evidence of long distance airborne transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Res.* 40, 39.
- Dee, S.A., Deen, J., Otake, S., Pijoan, C., 2004b. An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *Can. J. Vet. Res.* 68, 128-133.
- Dee, S.A., Torremorell, M., Thompson, R., Cano, J.P., Deen, J., Pijoan, C., 2007. Evaluation of the thermo-assisted drying and decontamination system for sanitation of a full-size transport vehicle contaminated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 15, 12-18.
- Elbers, A.R.W., Stegeman, A., Jong, M.D., de Jong, M.C.M., 2001. Factors associated with the introduction of classical swine fever virus into the pig herds in the central area of the 1997/1998 epidemic in The Netherlands. *Vet. Res.* 149, 377-382.
- Evans, C.M., Medley, G.F., Creasey, S.J., Green, L.E., 2010. A stochastic mathematical model of the within-herd transmission dynamics of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): fade-out and persistence. *Prev. Vet. Med.* 93, 248-257.
- Evans, C.M., Medley, G.F., Green, L.E., 2008. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in GB pig herds: farm characteristics associated with heterogeneity in seroprevalence. *BMC Vet. Res.* 4, 1-11.
- Everitt, B.S., Landau, S., Leese, M. (Eds.), 2001. *Cluster Analysis*. Oxford University Press, New York.
- Flori, J., Mousing, J., Gardner, I., Willeberg, P., Have, P., 1995. Risk factors associated with seropositivity to porcine respiratory coronavirus in Danish swine herds. *Prev. Vet. Med.* 25, 51-62.

- Gunn, G.J., Heffernan, C., Hall, M., McLeod, A., Hovi, M., 2008. Measuring and comparing constraints to improved biosecurity amongst GB farmers, veterinarians and the auxiliary industries. *Prev. Vet. Med.* 84, 310-323.
- Hald, B., Wedderkopp, A., Madsen, M., 2000. *Thermophilic Campylobacter* spp. in Danish broiler production: a cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. *Avian Pathol.* 29, 123-131.
- Harris, D.L., Alexander, T.J.L., 1999. Methods of disease control. In: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. (Eds.), *Diseases of Swine*, 8th edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1077-1110.
- Holtkamp, D., Polson, D., Wang, C., Melody, J., 2010. Quantifying risk and evaluating the relationship between external biosecurity factors and PRRS-negative herd survival. In: *Proceedings of American Association of Swine Veterinarians Omaha, Nebraska*, 109-113.
- Lambert, M.E., 2011. *Épidémiologie du syndrome reproducteur et respiratoire porcin dans deux régions de densités porcines différentes au Québec*. Thesis, (Ph.D.). University of Montreal, 240p.
- Le Potier, M.F., Blanquefort, P., Morvan, E., Albina, E., 1997. Results of a control programme for the porcine reproductive and respiratory syndrome in the French 'Pays de la Loire' region. *Vet. Microbiol.* 55, 355-360.
- MAPAQ, 2010. FLORA: Identification and registration of Quebec pig herds (data consulted in February 2010). Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). Québec, Canada.
- McQuiston, J.H., Garber, L.P., Porter-Spalding, B.A., Hahn, J.W., Pierson, F.W., Wainwright, S.H., Senne, D.A., Brignole, T.J., Akey, B.L., Holt, T.J., 2005. Evaluation of risk factors for the spread of low pathogenicity H7N2 avian influenza virus among commercial poultry farms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226, 767-772.
- Mortensen, S., Stryhn, H., Sogaard, R., Boklund, A., Stark, K.D., Christensen, J., Willeberg, P., 2002. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Prev. Vet. Med.* 53, 83-101.
- Neumann, E.J., Kliebenstein, J.B., Johnson, C.D., Mabry, J.W., Bush, E.J., Seitzinger, A.H., Green, A.L., Zimmerman, J.J., 2005. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 385-392.

- Noremark, M., Lindberg, A., Vagsholm, I., Sternberg Lewerin, S., 2009. Disease awareness, information retrieval and change in biosecurity routines among pig farmers in association with the first PRRS outbreak in Sweden. *Prev. Vet. Med.* 90, 1-9.
- Otake, S., Dee, S., Corzo, C., Oliveira, S., Deen, J., 2010. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet. Microbiol.* 145, 198-208.
- Otake, S., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Trincado, C., Pijoan, C., 2004. Studies on the carriage and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by individual houseflies (*Musca domestica*). *Vet. Rec.* 154, 80-85.
- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Deen, J., Molitor, T.W., Pijoan, C., 2002. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *J. Swine Health Prod.* 10, 59-65.
- Pinto, C.J., Urcelay, V.S., 2003. Biosecurity practices on intensive pig production systems in Chile. *Prev. Vet. Med.* 59, 139-145.
- Pitkin, A., Deen, J., Dee, S., 2009. Further assessment of fomites and personnel as vehicles for mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 73, 298-302.
- Pitkin, A., Otake, S., Dee, S., 2010. The role of people and fomites in the spread of swine pathogens: Observations from a 4-year project. In, Proc. Allen D. Leman Swine Conf.: Carlos Pijoan Symposium on Disease Eradication: The impact of People on Health Programs, St. Paul, Minnesota.
- Ribbens, S., Dewulf, J., Koenen, F., Mintiens, K., de Kruif, A., Maes, D., 2009. Type and frequency of contacts between Belgian pig herds. *Prev. Vet. Med.* 88, 57-66.
- Ribbens, S., Dewulf, J., Koenen, F., Mintiens, K., De Sadeleer, L., de Kruif, A., Maes, D., 2008. A survey on biosecurity and management practices in Belgian pig herds. *Prev. Vet. Med.* 83, 228-241.
- Rose, N., Madec, F., 2002. Occurrence of respiratory disease outbreaks in fattening pigs: relation with the features of a densely and a sparsely populated pig area in France. *Vet. Res.* 33, 179-190.
- Schaefer, N., Morrison, R., 2007. Effect on total pigs weaned of herd closure for elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 15, 152-155.

- Stärk, K.D.C., Keller, H., Eggenberger, E., 1992. Risk factors for the reinfection of specific pathogen-free pig breeding herds with enzootic pneumonia. *Vet. Rec.* 131, 532-535.
- Van Steenwinkel, S., Ribbens, S., Ducheyne, E., Goossens, E., Dewulf, J., 2011. Assessing biosecurity practices, movements and densities of poultry sites across Belgium, resulting in different farm risk-groups for infectious disease introduction and spread. *Prev. Vet. Med.* 98, 259-270.
- Vieira, A.R., Hofacre, C.L., Smith, J.A., Cole, D., 2009. Human contacts and potential pathways of disease introduction on Georgia poultry farms. *Avian Dis.* 53, 55-62.
- Wurtz, R., Moye, G., Jovanovic, B., 1994. Handwashing machines, handwashing compliance, and potential for cross-contamination. *Am. J. Infect. Control* 22, 228-230.
- Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Pirtle, E.C., Wills, R.W., Sanderson, T.J., McGinley, M.J., 1997. Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species. *Vet. Microbiol.* 55, 329-336.

Tables

Table V. Descriptive statistics for herd and neighbourhood characteristics of sites in a moderate (MD) and high (HD) density area according to production type in Quebec, Canada (125 breeding and 120 growing sites; May 2005-August 2008)

Herd and neighbourhood characteristics		MD		HD		
		Breeding n=54		Breeding n=71	Growing n=120	
Categorical variables		%		%		
Production type						
	Farrow-to-wean ^c	22		21		-
	Farrow-to-grow	15	a	9	a	-
	Farrow-to-finish	63		70		-
	Weaners	-		-		19
	Weaner-to-finish	-		-		12
	Finishers	-		-		69
Ownership						
	Independent	93	a	87	a,Λ	33 B
	Contract producer	7		13		67
Pig flow						
	All-in all-out ^d	63	a	54	a	65
	Continuous flow	37		46		35
Distance from public road						
	>300 m	24	a	6	b,Λ	21 B
	≤300 m	76		94		79
Continuous variables						
Number of productive sows	median	235	a	180	b	-
Total number of animals ^e	median	1269	a	1190	a,Λ	1543 B
Distance from closest pig site (m)	median	2750	a	400	b,Λ	500 Λ

^{a,b} For each variable, values within rows or proportions of sites within categories with different superscripts differ significantly ($P \leq 0.05$) between breeding sites in the MD and HD area, as determined by the Pearson exact chi-square test or the Wilcoxon rank sum test as appropriate.

^{Λ,B} For each variable, values within rows or proportions of sites within categories with different superscripts differ significantly ($P \leq 0.05$) between breeding and growing sites in the HD area, as determined by the Pearson exact chi-square test or the Wilcoxon rank sum test as appropriate.

^c One boar stud was classified as a farrowing site.

^d By farrowing rooms for breeding sites and by site or unit for growing sites.

^e Including gilts, sows, weaners and finishers if present on site.

Table VI. Descriptive statistics for specific biosecurity practices (%) reported according to region and production type (245 sites; May 2005-August 2008)

Description of biosecurity practices	MD		HD			
	Breeding		Breeding	Growing		
	n=54		n=71	n=120		
	%		%	%		
Layout of the site						
Barrier at the entrance of the site, closed at all times	2	a	1	a,Λ	0	Λ
Parking of vehicles at more than 30 m from the closest unit	7	a	4	a,Λ	0	B
Fence surrounding the site perimeter	2	a	0	a,Λ	1	Λ
Entrance protocol for people						
No-entry sign on the entrance door	65	a	39	b,Λ	23	B
Locked doors at all times	31	a	25	a,Λ	48	B
Doorbell at the entrance	37	a	31	a,Λ	17	B
Hygiene level						
Shower	19		3		0	
Washing hands only	9	a	10	b,Λ	8	Λ
No washing	72		87		92	
Clear separation between clean and contaminated areas (shower, line, bench)	30	a	17	a,Λ	18	Λ
Downtime for visitors (≥ 24 hr)	59	a	18	b,Λ	7	B
No employee in contact with pigs from other sites, pigs in transport or slaughterhouses	81	a	72	a,Λ	54	B
Transportation of pigs						
Truck washed between loads of pigs	28	a	25	a,Λ	35	Λ
Type of transport						
No commercial transport used	4		40		10	
Commercial without access to unit(s) by the driver	81	a	42	b,Λ	11	B
Commercial with access to unit(s) by the driver	15		18		79	
Pigs cannot re-enter the unit after loading	85	a	76	a,Λ	64	Λ
Dead pig, pest and manure management						
Dead pig disposal						
No rendering (incinerator, burying or composting)	37		34		32	
Rendering without access to the site by rendering truck	14	a	23	a,Λ	20	Λ
Rendering with access to the site by rendering truck	49		43		48	
Rodent control performed by exterminator	67	a	66	a,Λ	78	Λ
Bird-proofed wire screens in unit(s)	67	a	72	a,Λ	65	Λ
No dog or cat allowed within the unit(s)	91	a	77	b,Λ	94	B
No manure provided from other sites spread on the site	94	a	92	a,Λ	90	Λ
Feed, semen and gilt deliveries						
No feed delivery personnel access to unit	72	a	87	b,Λ	87	Λ
Purchase of semen						
No purchase	9		4		-	
Purchase without access to unit by the delivery personnel	69	a	76	a	-	
Purchase with access to unit by the delivery personnel	22		20		-	

Purchase of gilts				
No purchase	24		44	-
Purchase with quarantine ^c	2	a	7	b
Purchase without quarantine	74		49	-

^{a,b} For each variable, proportions of sites within categories with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$) between breeding sites in the MD and HD areas, as determined by the Pearson exact chi-square test.

^{A,B} For each variable, proportions of sites within categories with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$) between breeding and growing sites in the HD area, as determined by the Pearson exact chi-square test.

^c Quarantine was defined as a minimum of 2 weeks of isolation for gilts before entering the sow herd and with an all-in all-out pig flow between groups of gilts.

Table VII. Descriptive statistics for herd and neighbourhood characteristics (expressed as % of total number of sites in each pattern) according to biosecurity patterns obtained through the classification of breeding (A and B; n=125) and growing (C and D; n=120) sites (May 2005-August 2008)

Herd and neighbourhood characteristics		Biosecurity patterns			
		Breeding		Growing	
		A	B	C	D
		n=84	n=41	n=67	n=53
Categorical variables		%	%	%	%
Area					
	Moderate density (MD)	38 ^a	54 ^a	-	-
	High density (HD)	62	46	-	-
Production type					
	Farrow-to-wean ^c	8	49	-	-
	Farrow-to-grow	11 ^a	12 ^b	-	-
	Farrow-to-finish	81	39	-	-
	Weaners	-	-	10	30
	Weaner-to-finish	-	-	13 ^A	9 ^B
	Finishers	-	-	76	61
Ownership					
	Independent producer	99 ^a	71 ^b	31 ^A	36 ^A
	Contract producer	1	29	69	64
Pig flow					
	All-in all-out ^d	55 ^a	63 ^a	64 ^A	65 ^A
	Continuous flow	45	37	36	35
Distance from public road					
	>300 m	6 ^a	29 ^b	21 ^A	21 ^A
	≤300 m	94	71	79	79
Continuous variables					
Number of productive sows	median	174 ^a	325 ^b	-	-
Total number of animals ^e	median	1344 ^a	1000 ^a	1300 ^A	2000 ^B
Distance from closest pig site (m)	median	500 ^a	1220 ^b	457 ^A	610 ^A

^{a,b} For each variable, values within rows or proportions of sites within categories with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$) between pattern A and B, as determined by the Pearson exact chi-square test.

^{A,B} For each variable, values within rows or proportions of sites within categories with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$) between pattern C and D, as determined by the Pearson exact chi-square test.

^c One boar stud was classified as a farrowing site.

^d By farrowing rooms for breeding sites and by site or unit for growing sites.

^e Including gilts, sows, weaners and finishers if present on site.

Table VIII. Descriptive statistics for specific biosecurity practices (expressed as % of total number of sites in each pattern) according to biosecurity patterns obtained through the classification of breeding (A and B; n=125) and growing (C and D; n=120) sites (May 2005-August 2008)

Description of biosecurity practices	Biosecurity patterns							
	Breeding				Growing			
	A	B	C	D	A	B	C	D
	n=84	n=41	n=67	n=53				
	%	%	%	%				
Layout of the site								
Barrier at the entrance of the site, closed at all times	0	a	5	a	0		0	
Parking of vehicles at more than 30 m from the closest unit	1	a	15	b	0		0	
Fence surrounding the site perimeter	0	a	2	a	1	A	0	A
Entrance protocol for people								
No-entry sign on the entrance door	38	a	76	b	21	A	26	A
Locked doors at all times	6	a	73	b	16	A	89	B
Doorbell at the entrance	13	a	76	b	12	A	23	A
Hygiene level								
Shower	0		29		0		0	
Washing hands only	4	a	22	b	0	A	17	B
No washing	96		49		100		83	
Clear separation between clean and contaminated areas (shower, line, bench)	4	a	61	b	1	A	38	B
Downtime for visitors (≥ 24 hrs)	23	a	63	b	1	A	13	B
No employee in contact with pigs from other sites, pigs in transport or slaughterhouses	74	a	80	a	70	A	34	B
Transportation of animals								
Truck washed between loads of pigs	17	a	46	b	31	A	38	A
Type of transport								
No commercial transport used	32		7		13		6	
Commercial without access to unit(s) by the driver	49	a	80	b	7	A	15	A
Commercial with access to unit(s) by the driver	19		12		79		79	
Pigs cannot re-enter the unit after loading	73	a	95	b	60	A	72	A
Dead pig, pest and manure management								
Dead pig disposal								
No rendering (incinerator, burying or composting)	35		32		45		13	
Rendering without access to the site by rendering truck	14	a	27	a	9	A	32	B
Rendering with access to the site by rendering truck	51		41		46		55	
Rodent control performed by exterminator	63	a	73	a	64	A	94	B
Bird-proofed wire screens in unit(s)	68	a	73	a	52	A	81	B
No dog or cat allowed in the unit(s)	76	a	98	b	90	A	100	B
No manure provided from other sites spread on the site	93	a	93	a	91	A	89	A
Feed, semen and gilt deliveries								
No feed delivery personnel access to unit	76	a	90	a	79	A	96	B

Purchase of semen						
No purchase	6		7		-	-
Purchase without access to unit by delivery personnel	70	^a	78	^a	-	-
Purchase with access to unit by delivery personnel	24		15		-	-
Purchase of gilts						
No purchase	43		19		-	-
Purchase with quarantine ^c	2	^a	10	^b	-	-
Purchase without quarantine	55		71		-	-

^{a,b} For each variable, proportions of sites within categories with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$) between pattern A and B, as determined by the Pearson exact chi-square test.

^{A,B} For each variable, proportions of sites within categories with different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$) between pattern C and D, as determined by the Pearson exact chi-square test.

^c Quarantine was defined as a minimum of 2 weeks of isolation for gilts before entering the sow herd and with an all-in all-out pig flow between groups of gilts.

Figures

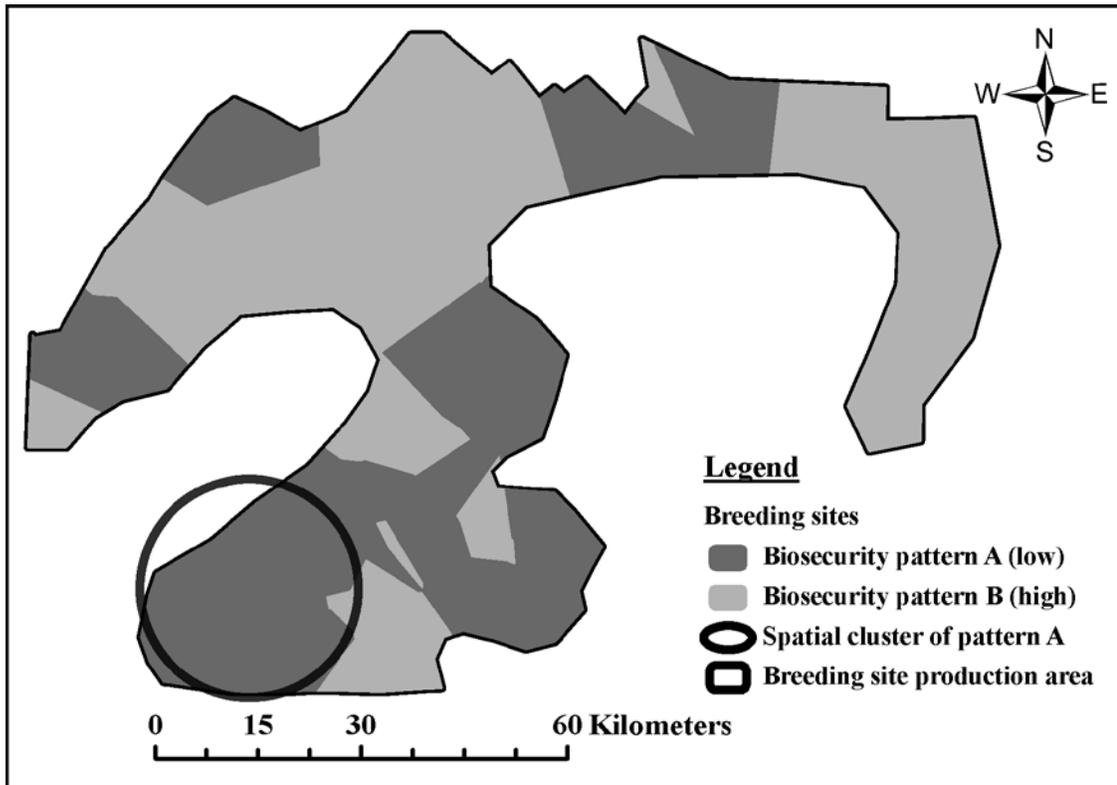


Figure 3. Geographical distribution of breeding sites in moderate density (MD) area according to biosecurity patterns (A vs. B)

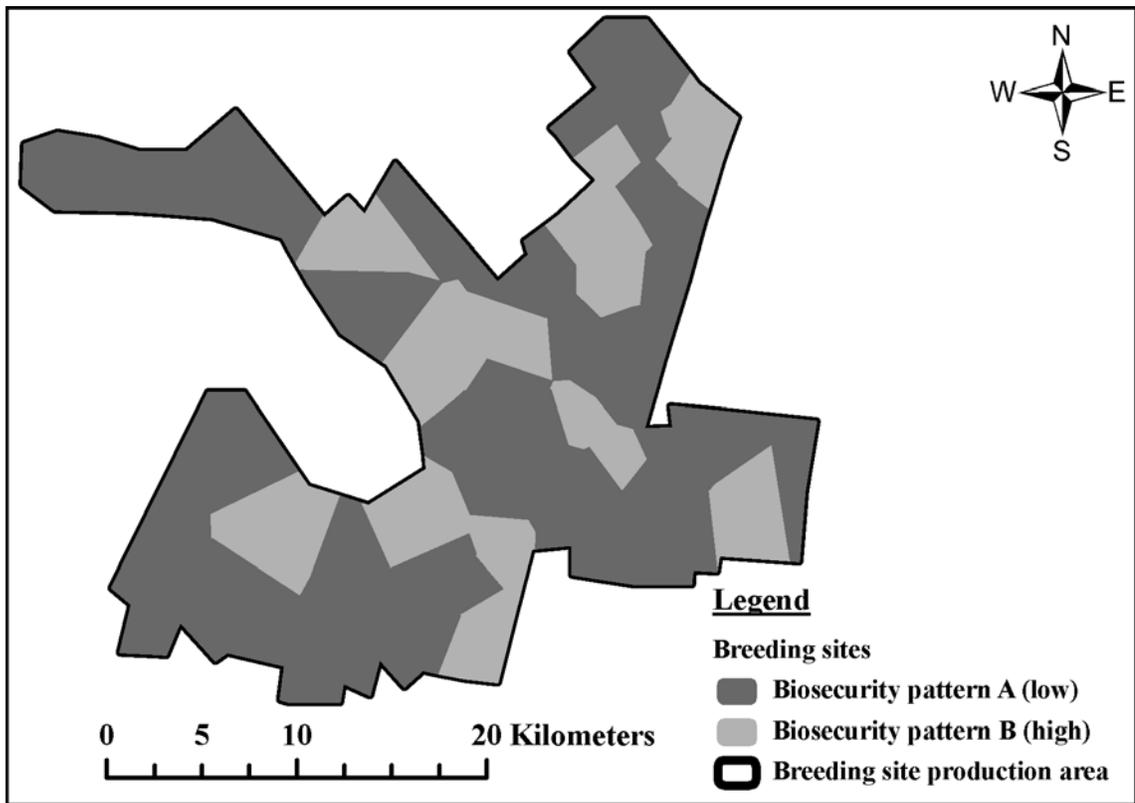


Figure 4. Geographical distribution of breeding sites in high density (HD) area according to biosecurity patterns (A vs. B)

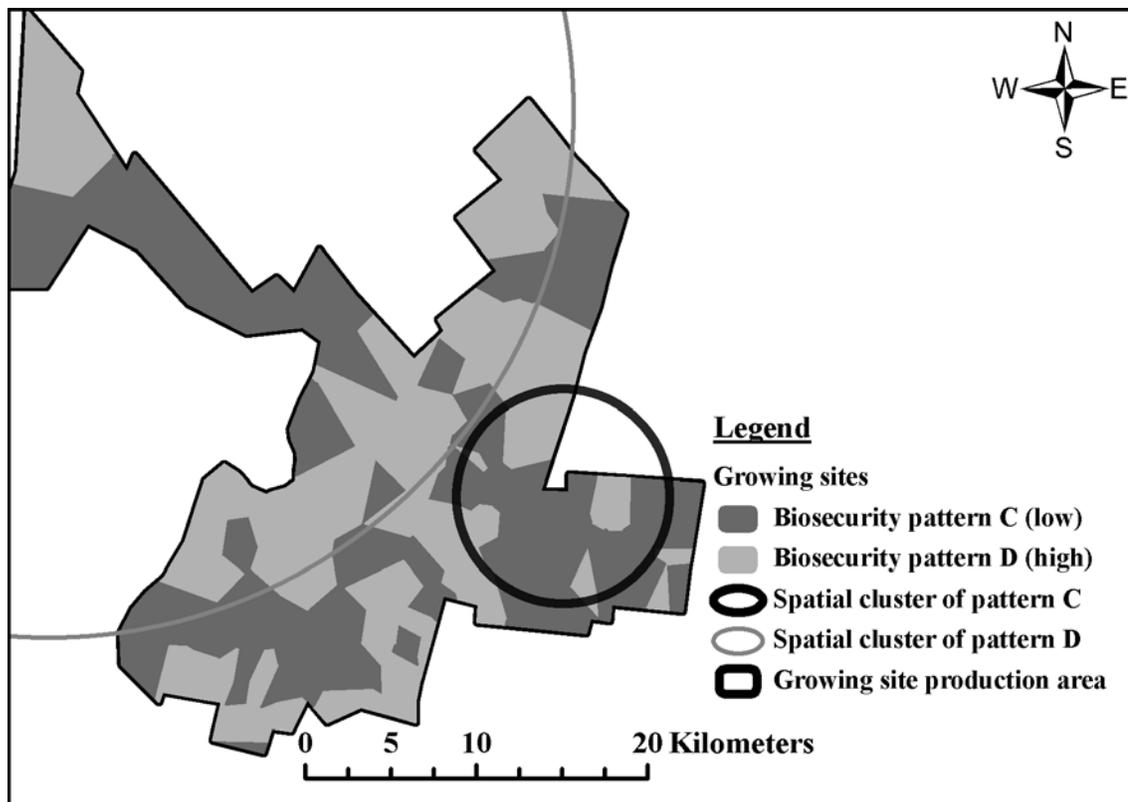


Figure 5. Geographical distribution of growing sites in high density (HD) area according to biosecurity patterns (C vs. D)

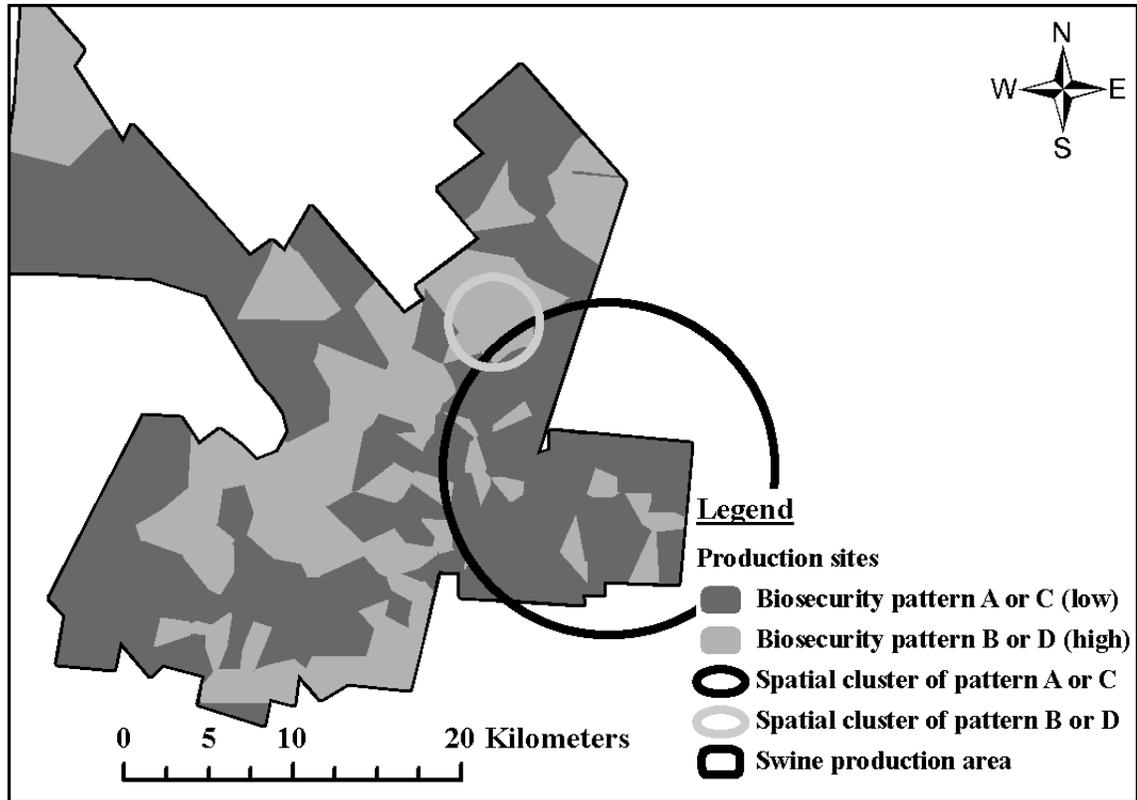


Figure 6. Geographical distribution of breeding and growing sites in high density (HD) area according to biosecurity patterns (A or C vs. B or D)

Chapitre 3

Epidemiological investigations in regard to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) control in Quebec, Canada

Part 2: Prevalence and risk factors for PRRS virus infection of breeding sites in a moderate density area of swine production

Marie-Ève Lambert^a, Julie Arsenault^a, Zvonimir Poljak^b, and Sylvie D'Allaire^a

^aFaculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, St. Hyacinthe, Quebec, Canada

^bDepartment of Population Medicine, Ontario Veterinary College, University of Guelph, Ontario, Canada

Article soumis aux fins de publication dans la revue:

Preventive Veterinary Medicine

Abstract

Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) is a major threat for swine industry and understanding factors involved in its epidemiology is undoubtedly essential for disease control. As a part of a larger project, a cross-sectional study was performed on breeding sites in a moderate density area of swine production in Quebec to estimate the prevalence of PRRSV infected sites and to evaluate if herd and neighbourhood characteristics of sites and biosecurity practices, either as specific measures or as a global score, were associated with PRRSV status. A questionnaire and diagnostic procedures were performed on 54 breeding sites between September 2006 and August 2008. A biosecurity score that had been previously computed using two-step clustering procedure (SPSS 16.0), classifying breeding sites into two biosecurity patterns (high vs. low) according to 21 specific biosecurity measures was used. The apparent prevalence of PRRSV infected sites was 74.0% (CI: 60.3-85.0). Univariable and multivariable logistic regression models with robust standard errors adjusting for potential clustering of sites due to same ownership were computed. In a first multivariable model evaluating herd and neighbourhood characteristics of sites and specific biosecurity variables, four main effects were significantly associated ($P < 0.05$) with PRRSV positive status: large pig inventory (OR: 10.7), proximity to closest pig site (OR: 7.3), absence of shower (OR: 8.7) and free access to the main entrance of the site by the rendering truck (OR: 7.0). In a second multivariable model including a global biosecurity score as a surrogate for a specific pattern of biosecurity measures, this score was not retained in the final model. Whereas 16% of the observed infected sites could have been attributed to the proximity to closest pig site, 27% and 10% of them could have been potentially prevented by the implementation of a shower at the entrance of the barn or by forbidding access to main entrance of the site by the rendering truck, respectively. These two biosecurity measures, manageable directly on the site, should be prioritized and be part of any intervention strategy designed for PRRSV control.

Keywords: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PRRS; Risk factors; Biosecurity; Pigs.

1. Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is caused by a spherical, enveloped, single-stranded and positive-sense RNA virus belonging to the family of *Arteriviridae* (Cavanagh, 1997). The disease is responsible for major economic losses in swine industry, affecting all stages of production (Neumann et al., 2005). In breeding herds, the virus induces late-term abortions, reduces farrowing rate, leads to the production of heterogeneous litters (stillborn, mummified or weak piglets) and to a decrease in the number of weaned piglets (Christianson and Joo, 1994). In weaner-finisher phases, the infection is associated with respiratory signs, increased mortality rate and a decrease in growth performances (Christianson and Joo, 1994).

The important heterogeneity observed among PRRS virus (PRRSV) strains of both known genotypes, the European and the North American, combined with the absence of complete protection following heterologous challenge complicate disease management (Meng et al., 1995a; Meng et al., 1995b; Lager et al., 1999; Meng, 2000; Forstberg, 2002; Prieto et al., 2008). In fact, protection against a heterologous PRRSV strain is not warranted through commercial vaccination since both modified-live vaccines currently available are based on a single PRRSV strain each. Avoiding introduction of the virus into a herd is therefore essential, but difficult, considering the several means of transmission reported in the literature. Introduction of infected semen or boars are important risk factors for occurrence of the disease in a herd (Le Potier et al., 1997; Mortensen et al., 2002). Purchase of gilts from PRRSV positive herd or movement of other types of infected animals between different stages of production represents also a known mechanism of transmission between production sites (Mousing et al., 1997; Larochelle et al., 2003). Furthermore, vehicles could be an important actor of regional spread of PRRSV since they are capable of conveying the virus over significant distances on their wheels (Dee et al., 2002). Other fomites carried by people, including boots, coveralls and exterior surfaces of shipping containers are also suspected as potential ways of virus introduction (Dee et al., 2002; Otake et al., 2002a; Pitkin et al., 2009). In addition, live mechanical vectors should be considered in the epidemiology of the disease: flying insects and potentially, rodents, waterfowl, as well as other wild and domestic animals (Hooper et al., 1994; Zimmerman et al., 1997; Otake et al., 2002b; Trincado et al., 2004). Finally, since viable PRRSV is isolated from aerosols sampled several kilometers from an infected population

source, this latter mechanism can also favour area spread of the virus between different production sites (Otake et al., 2010).

Considering the several pathways of PRRSV transmission, internal and external biosecurity could be implemented to slow down the transmission of an endemic strain within a herd as well as between herds (Amass and Clark, 1999; Dargatz et al., 2002; Barrington et al., 2006). The effectiveness of all generally recommended biosecurity measures against PRRSV introduction has not yet been assessed in field studies, but some experiments have been conducted on strategies to limit mechanical transmission of the virus through aerosols, vehicles visiting the site or personnel/fomites entering the barn (Dee et al., 2004; Dee et al., 2007; Dee et al., 2010). PRRSV-negative herd survival was found to be positively associated with sanitation procedure for employees and visitors entering the site, restrictions on employee access to site and thermo-assisted drying of vehicles (Holtkamp et al., 2010a). Relationship between biosecurity measures implemented in the field and PRRSV status of production sites is important to assess in order to plan preventive measures to avoid transmission of the virus between sites in a perspective of regional management of the disease. Therefore, the objectives of this study were to estimate the prevalence of PRRSV infected sites and to determine whether herd and neighbourhood characteristics of sites and biosecurity practices, evaluated as specific measures or as a global score, were associated with PRRSV status of breeding sites in a moderate density area of swine production in Quebec.

2. Materials and methods

2.1. Study design and source population

A cross-sectional study was conducted in the Estrie region of the province of Quebec, Canada, between September 2006 and August 2008. This region represents a moderate density area of swine production (44 pigs/km², Identification and registration database of Quebec pig sites (MAPAQ, 2010)). The source population was all production sites housing sows. Site was defined as one or more barns located within 300 m from another, belonging to the same owner (individual or corporate), and having the same animal source(s). In order to select sites, all producers listed into the Quebec Federation of Pork Producers (FPPQ) database and registered as owner of sow operation(s) were contacted. A written description of the project

and a participation form to sign and return were initially sent to them, and participation was obtained through a voluntary basis. For refusal or in the absence of a response, producers were contacted by phone to seek for their participation or to inquire for reasons of refusal.

2.2. Questionnaire

A questionnaire was developed to assess the potential risk factors reported in the literature for introduction of PRRSV within a site. Four veterinarians specialized in swine production and three producers were consulted to assess relevance, clarity and completeness of questions. This questionnaire (in French) comprised mostly semi-closed questions, and is available upon request from the first author. The questionnaire was filled out by the first author during a 45 minute live interview with the owner (independent farm) or the employee (for farm under contract). When it was absolutely impossible to perform live interview (mainly because the producer was not available on the site), the questionnaire was completed during a phone interview. All questions pertained to practices at the time of questionnaire completion with the exception of questions regarding gilt purchases (previous six months). Data were obtained on different herd and neighbourhood characteristics of participating sites (Table IX) and on specific external biosecurity practices (Table X).

2.3. Sampling strategy and laboratory analysis

Assessment of PRRSV status of production sites varied according to PRRS history and clinical signs at the time of sampling as reported by the producer. Sites housing at least one pig positive for presence of PRRSV or antibodies were classified as infected. All diagnostic procedures were done at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Montreal in St. Hyacinthe. The procedures were approved by the Comité d'éthique de l'utilisation des animaux of the University of Montreal (certificate number: 09-rech-1291).

2.3.1. On sites with lifelong herd clinical history of PRRS (suspected to be positive)

For sites with clinical signs compatible with PRRS at the time of sampling, animals were sampled in order to confirm their positive status to PRRSV infection and also to maximize the probability of identifying a PRRS viral strain. A pool of lungs, tonsils and tracheobronchial lymph nodes was collected at time of necropsy of 1 to 3 suckling piglets, weaners or finishers,

according to the stage of production being most clinically affected by dyspnea. At the onset of an outbreak with presence of abortions, sera were drawn from sows. In absence of clinical signs compatible with PRRS at the time of sampling, 10 samples were drawn from animals at higher risk of viremia (gilts recently introduced into the breeding site or piglets in mid-nursery) and were pooled (maximum 5 samples per pool) for further analyses.

RNA was extracted from a homogenate of lungs, tonsils and lymph nodes or from serum with QIAamp viral RNA mini kit according to the manufacturer's instructions (Qiagen Inc., Mississauga, Ontario, Canada). Subsequently, RT-PCR was accomplished using Qiagen OneStep RT-PCR Kit and primers 5FN and 5DN under PCR conditions for detection of viral RNA as described by Larochelle et al. (2003). In the presence of a RT-PCR positive sample, ORF5 sequencing was performed. PCR products were purified before sequencing with Qiaquick spin kit (Qiagen). Sequencing of ORF5 was done on both directions of PCR products using amplification primers with BigDye terminator on ABI PRISM 310 Genetic analyzer (Applied Biosystems Canada, Streetsville, Ontario, Canada). In the presence of a RT-PCR negative result, additional samples were submitted to RT-PCR (lungs, tonsils and lymph nodes from necropsy or serums) when available. If RT-PCR results were again negative, the strategy described below was used.

2.3.2. On sites with no lifelong herd clinical history of PRRS (suspected to be negative)

When no clinical history of PRRS was reported by the producer and no commercial vaccination was performed on the site, samples were taken to confirm absence of infection. To that purpose, 30 sows of different parities were sampled. This strategy allowed the detection of infection in large sites assuming a 10% seroprevalence with a 95% herd confidence level. Sera were tested for presence of antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) commercially available (IDEXX HerdChek-PRRS 2XR) as originally described by Albina et al. (1992) and performed as recommended by the manufacturer. Seropositivity threshold was fixed to a sample-to-positive (S/P) ratio ≥ 0.4 . When ≤ 2 sample(s) out of 30 were positive, these samples were retested by ELISA. The site was classified as positive when at least one sample was ELISA positive after retest. In presence of a positive ELISA, all positive sera were pooled up to a maximum of 5, sent for RT-PCR and submitted to the same procedure as described above.

2.4. Statistical analysis

Information obtained through the questionnaire and diagnostic procedures was coded, entered into a spreadsheet and entries were double checked. The number of heat producing units (1HPU=1000 watts at 20°C) was calculated to allow comparison of pig inventory among farrow-to-wean, farrow-to-grow and farrow-to-finish sites using the following equation, $HPU = 0.17 * (\text{weaners and/or finishers}) + 0.30 * (\text{gilts or sows})$ (Flori et al., 1995). Apparent prevalence of PRRSV infected sites was calculated as the proportion of sites housing at least one pig presenting PRRS antibodies or having RT-PCR positive results. Confidence interval (95%) based on an exact method was computed around the estimated apparent prevalence using SAS (SAS Institute Inc., version 9.1, Cary, NC, USA). Sites having one or more missing value for predictors investigated were excluded from subsequent analyses. Univariable logistic regression model using robust standard errors was computed in Stata (StataCorp., version 8.0, College Station, TX, USA) to identify predictors associated with PRRSV status, adjusting for potential clustering of sites managed by the same owner (independent producer or integrated pig company). Continuous variables were dichotomized around median of the distribution due to violation of linearity assumption based on graphical exploration of the log odds. Univariable associations showing a P-value ≤ 0.15 were selected for inclusion in full multivariable logistic regression models using robust standard errors. Multicollinearity between these latter variables was assessed using multiple linear regression model in SAS seeking for tolerance greater than 0.4. Backward model building strategy was used to generate two different multivariable logistic regression models using Stata, with a $P > 0.05$ as criterion for variable removal. At each step of the model building strategy, changes of more than 30% in coefficient estimates were assessed as a sign of confounding. The first model was built using specific biosecurity practices described in Table X. The second model used a biosecurity score similar to the one described by Lambert et al. (2010), which was obtained using two-step clustering procedure (SPSS Inc., version 16.0, Chicago, IL, USA) to group sites in different biosecurity patterns according to 21 specific biosecurity measures. A level of biosecurity, low or high, was subsequently attributed to the two patterns obtained based on the frequency of specific biosecurity measures observed in these latter patterns (see article for details). For each final model, Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test was computed and deviance residuals were observed for presence of extreme observations. Predicted probabilities of infection with 95% confidence interval were computed for covariate patterns observed in our dataset. The sensitivity of results to potential

misclassification bias of PRRSV status resulting from the vaccination process was evaluated from final models. This was done by recomputing the models without sites performing vaccination on which a field virus strain (defined as a virus with <98% ORF5 pairwise homology with commercial vaccine strains) was not identified or a PRRS outbreak had not been reported in the sow herd within the last 5-years period.

Adjusted population attributable fractions (AF) were generated in Stata using the `aflogit` function for cross-sectional data (Brady, 1998). The function recovers AF estimates for each of the exposure term specified in the final multivariable logistic regression model using robust standard errors and based on specific biosecurity variables. Thus, the procedure enables confounders to be taken into account in the computation. The procedure also generates a summary attributable fraction for all terms combined. This statistic provides an estimate of the impact of the risk factor on the disease occurrence in the population accounting for both the strength of the association on the outcome and the prevalence of the risk factor in the population (Dohoo et al., 2003). The principle behind using logistic regression to estimate AF is to fit the multivariable model and then calculate the number of case predicted by the model. Then, the exposure effect is removed from the dataset by resetting exposure covariates to zero. The predicted probability of infection by PRRSV for each site with the new covariate values but under the same multivariable logistic model are recomputed and summing these probabilities gives the number of positive sites one would expect if the exposure was absent from the population.

3. Results

A total of 87 owners of sow operations listed into the FPPQ database were contacted for participation in the study. Whereas 19 producers were excluded due to halt of production or to the absence of sows on the site, 6 producers refused to participate for lack of interest or time and 11 were unreachable after several calls. This gave an overall participation on an ownership basis of 75%, and resulted in the inclusion of 54 production sites. All questionnaires were filled out during live interviews with the exception of 5 sites. Most of the time (85%), a single barn was present on the site. Of 19 sites suspected PRRSV negative, 14 were confirmed negative, the remaining being classified as PRRSV positive. All sites suspected PRRSV positive (n=35)

were confirmed either by RT-PCR (n=29) or ELISA (n=6). Consequently, a PRRSV positive status was obtained on 74.0% (CI: 60.3-85.0) of the 54 sites.

Two of the 54 sites were excluded from the risk factor analysis because of missing data from the questionnaire. Commercial vaccination was performed on 14 of the 52 (26.9%) sites. Herd and neighbourhood characteristics of the participating sites are described in Table IX. Table X shows the proportion of PRRSV positive sites according to predictors investigated. All negative sites purchased semen from an accredited insemination center negative for PRRSV. When rendering trucks had access to the main entrance of the site, carcasses were picked-up at a mean distance of 35 m from the closest barn. Five variables had to be excluded from regression analyses due to absence of variation in frequency of the predictor for positive or negative sites: barrier at entrance of the site, fence surrounding perimeter, contact of employees with other pigs, purchase of semen and purchase of PRRSV positive gilts. Furthermore, clear separation between clean and contaminated areas and absence of rendering (incinerator, burying or composting) on the site were also excluded for strong colinearity with shower and absence of access to the main entrance of the site by the rendering truck, respectively.

After these exclusions, 24 variables were considered for analyses. Predictors having univariable associations with PRRSV status showing P-value ≤ 0.15 and used in full multivariable models are presented in Table XI. Four variables were significantly associated with PRRSV status in the first multivariable model (Table XII). According to this model, sites housing ≤ 300 HPU and located at ≤ 2.5 km from the closest pig site had a predicted probability of being positive for PRRSV of 32.9% (CI: 11.5-65.1) if they were requiring a shower and were not allowing access to the main entrance of the site by the rendering truck. However, their probability of being positive increased to 77.6% (CI: 38.2-95.1) in absence of precautions regarding the rendering truck, to 81.0% (CI: 57.3-93.1) in absence of shower and to 96.8% (81.4-99.5) in absence of the two latter biosecurity practices. For the second multivariable model, two main effects remained significant when specific biosecurity practices were substituted by a global score: pig inventory and distance from closest pig site. The two final multivariable regression models did not show any lack of goodness-of-fit or influential observations (all deviance residuals < 0.7). No evidence of confounding between variables dropped and kept in final models was observed.

Final models were recomputed excluding the 5 sites for which it was not possible to determine whether the site was infected by a field virus strain or only by a vaccine strain since no PRRS outbreak in the sow herd had been reported within the last 5 years and no field virus strain could be identified. Similar estimates of main effects were obtained for most variables of model 1: HPU>300 (OR: 9.8; P=0.02), distance from the closest pig site \leq 2.5 km (OR: 7.3; P<0.01), and absence of shower at the entrance (OR: 7.4; P=0.01). However, the access to the main entrance of the site by the rendering truck was marginally not statistically significant (OR: 5.4; P=0.06). In model 2, estimates of main effects were similar (i.e. less than 12% change in odds ratio).

Adjusted population attributable fractions obtained for final model 1 (using herd characteristics and specific biosecurity variables) are presented in Table XIII. The AF estimate for each risk factor takes into account the other three risk factors present in the multivariable model. Due to large confidence intervals, AF of specific exposures should be compared with caution. The AF generated for absence of shower could have been twice the size of those obtained for the other risk factors included into the model. Considering quite similar OR among risk factors of final model 1 (Table XII), the relative importance of the prevalence of this latter risk factor suggested that we could benefit from enhancement of this measure in the field.

4. Discussion

The apparent prevalence of PRRSV positive site was 74% (CI: 60-85). Of the 103 farms surveyed in Illinois in United States, 50 (49%) had been diagnosed with PRRSV infection between 1992 and 1997 (Weigel et al., 2000). Our result was rather similar to the seroprevalence reported in Korea between 1995-1996 for farrow-to-finish herds (69%, n=160) and slightly lower to the one obtained in Spain in 2002-2003 (91%, n=44), both studies being conducted on non vaccinated herds (Cheon et al., 1997; Lopez-Soria et al., 2010). Most papers reported the apparent prevalence of the disease which could vary according to the sensitivity and specificity of the diagnostic procedure(s) used to assess the status. In fact, different diagnostic procedures may be available according to countries and time, making difficult to compare studies on the basis of the true prevalence of disease. The apparent prevalence

reported here raised several concerns regarding feasibility of PRRSV regional control or elimination in this area.

Results showed that PRRSV infected sites were associated with higher odds of having >300 HPU pig inventory than non infected sites. Heat producing unit was used to combine the effect of number and type of animals allowing comparison between sites having different production types, but also to limit the number of variables, a major concern considering our small sample size. Heat producing unit has been previously used in studies on PRRS and other swine respiratory diseases (Flori et al., 1995; Mousing et al., 1997; Mortensen et al., 2002). Larger pig inventories are in general associated with a greater risk of being PRRSV positive (Weigel et al., 2000; Mortensen et al., 2002; Evans et al., 2008; Holtkamp et al., 2010a). Several reasons could explain the impact of pig inventory on PRRSV status, including the expected number of direct (animal to animal) or indirect (person or vehicle to animals) contacts at the herd level. In fact, an increased number of replacement gilts to be introduced into the breeding herd and a higher number of dead pigs or animals that have to be slaughtered or culled could be expected in larger herds. Number of transports could therefore be higher as a consequence of these increased animal movements (Gardner et al., 2002; Ribbens et al., 2009). Furthermore, more contacts from employees and staff from technical services could be expected in larger herds, increasing traffic on the site (Bates et al., 2001; Boklund et al., 2004; Ribbens et al., 2009). Differences could also exist regarding some biosecurity or management practices (Siegel and Weigel, 1999; Gardner et al., 2002; Boklund et al., 2004; Costard et al., 2009) and studies also reveal that larger herds are at higher risk for introduction of pathogens transmitted through aerosols (Christensen et al., 1990; Flori et al., 1995). Furthermore, studies based on simulations showed that the probability of within-herd persistence of the virus increased with herd size, leading to greater time-to-extinction of the disease (Nodelijk et al., 2000). Considering that pig inventory on the site is a factor that cannot be modified and that our study did not allow the identification of the exact mechanism involved through this association, further studies should be designed in order to clarify the underlying pathways of transmission.

PRRSV infected sites were associated with higher odds of being located ≤ 2.5 km from the closest pig site compared to non infected sites. The effect of proximity or of exposure from infected neighbouring sites is corroborated by others (Mortensen et al., 2002; Evans et al.,

2008; Holtkamp et al., 2010a). This effect could be associated with area spread of the virus, a concept introduced to summarize all short-distance processes that could be involved into transmission of PRRSV between sites, without being able to identify the exact mechanism (Lager et al., 2002; Larochelle et al., 2003). Aerosol transmission might be involved since no participating site was under air filtration. In fact, experimental studies showed that PRRSV could be transmitted to susceptible pigs by aerosols on short distances (Kristensen et al., 2004; Dee et al., 2005) and recently, live virus was identified up to 9.1 km from an infected population (Otake et al., 2010). Flying insects could also explain the transmission of the virus between sites during warm season. Mosquitoes (*Aedes vexans*) and houseflies (*Musca domestica*) can serve as mechanical vectors and certainly can contribute to the transmission of the virus between pigs within a site (Otake et al., 2002b; Otake et al., 2004) and between sites considering the fact that infectious virus was identified in flies collected up to 1.7 km from an infected facility (Schurrer et al., 2004). Moreover, a herd located close to another could be more susceptible to higher traffic of vehicles or people that relates to swine industry or to potential transmission through wild-life mechanical vectors (Ribbens et al., 2009). Results showed that proximity from the closest pig site was associated to a high probability for a site to be infected even in absence of other risk factors and was also potentially associated to more than 15% of the infected sites within the study population. Investigation of precise mechanisms involved is therefore essential to target interventions.

PRRSV infected sites were associated with higher odds of not having a shower for people entering the barn. It was shown that the virus can survive on boots, coveralls and hands of personnel for short period of time and could result in mechanical transmission of the infection to susceptible pigs (Otake et al., 2002a; Pitkin et al., 2009). Even if some elements regarding the entrance protocol were evaluated experimentally for PRRS or for other viral diseases (Otake et al., 2002a; Amass et al., 2004; Dee et al., 2004), the relationships between the different biosecurity requirements and PRRSV status had not been quantified nor widely discussed in observational studies (Mortensen et al., 2002; Evans et al., 2008; Holtkamp et al., 2010a; Holtkamp et al., 2010b). However, a significant positive effect of sanitation procedure for employees and visitors entering the site on the length of time the herd remains free from PRRSV infection is reported (Holtkamp et al., 2010a). Furthermore, mechanical transmission of PRRSV through fomites/personnel was also prevented for a barn requiring shower-in/out and changing clothes/boots in a 4-year regional production model experiment (Pitkin et al.,

2010). Therefore, producers should restrict access to the barn to employees essential to maintenance of production and enhance their entrance protocol since it represents the last physical barrier over which the producer can still have some control to limit PRRSV introduction. Furthermore, results showed that implementation of a shower at the entrance could help considerably in the prevention of the disease, since a quarter of the infected sites in the study population was associated to the absence of shower.

PRRSV infected sites were associated with higher odds of allowing access to their main entrance by the rendering truck. Limited documentation was found regarding its association with positive health status of site for PRRS or other diseases. A positive association with the number of rendering lorries entering the farm was reported in a study investigating the occurrence of respiratory outbreaks in fattening pigs (Rose and Madec, 2002). Several findings corroborate the likelihood for PRRSV introduction through this mechanism. In fact, the rendering truck has a high potential of contacts with pathogens from a large number of farms visited each day over a large territory (Bates et al., 2001). Studies also showed that vehicles can carry PRRSV on their wheels up to 50 km, especially in cold weather which enhances virus survival (Dee et al., 2002; Hermann et al., 2007). In addition, the pick-up of carcasses by rendering truck was often very close to the barn which could increase the probability of a farm to be exposed to pathogens conveyed by the rendering truck (Boklund et al., 2004). The effect of the rendering truck could be mediated through contamination of the site followed by a breach in the entrance protocol or through particles conveyed by aerosols or insects in contact with carcasses that are carried by the rendering truck. Excluding the five sites for which it was impossible to distinguish if the site was infected by a field virus strain or only by a vaccine strain, the effect of the rendering truck turned out to be marginally not statistically significant ($P=0.06$) but with similar size effect. Further studies are also warranted to clarify the underlying pathways of transmission involved through this risk factor.

Multivariate classification has been previously used to describe and resume biosecurity or other management practices that are often correlated with each other (Hurnik et al., 1994b; Boklund et al., 2004; Ribbens et al., 2008; Costard et al., 2009). However, the association between disease status of production sites and a “global” variable resulting from the classification is seldom assessed. Using factor analysis, Hurnik et al. (1994a) classified herds according to management and environmental characteristics and found that some combinations of farm

characteristics were associated with the risk of enzootic pneumonia. Baptista et al. (2010) obtained similar findings regarding biosecurity and *Salmonella* status of breeding sites. Regarding PRRSV, Mortensen et al. (2002) grouped variables related to entrance protocol and transport requirements into a biosecurity score and found no significant association with risk of infection. However, Holtkamp et al. (2010b) recently identified that higher external risk score was associated with a greater risk of becoming PRRSV positive. In our study, no association between PRRSV status and biosecurity was identified when using a global score for biosecurity practices. Consequently, it did not support the use of a global score to assess the risk of PRRSV infection, especially if the classification is not based on quantified effects of single measures reported in epidemiologic studies. Few reasons might explain the lack of association. Specific biosecurity practices were summarized into one global score as a descriptive approach to appreciate the overall level of biosecurity applied on sites and variables were not weighted according to their relative importance against PRRSV introduction. The global score also included 21 variables and most of them were not associated with PRRSV status of production sites. Moreover, the variables that have influenced the classification of sites in different biosecurity patterns were not exactly the same as those associated with PRRSV status. The higher biosecurity pattern did not represent sites applying all biosecurity practices so it could not be interpreted as the combined effect of all biosecurity measures. Also, PRRSV status was defined in terms of prevalence and the score was only based on external biosecurity measures. Consequently, that score may have represented only a part of the potential effect of biosecurity on PRRSV status of production sites.

Some producers did not want to participate in the survey whereas others could not be contacted. The fairly good participation (75%) supported the internal validity of the study, but total absence of selection bias was impossible to assess. Moreover, underestimation of the participation is possible if some unreached producers were out of business. The FPPQ list from which the sample of producers was selected only records those having more than 5000\$ CAN of annual income from agriculture; thus very small sites of production were unlikely to be included in our study. Despite a low biosecurity level observed on small or hobby farms investigated in another country (Costard et al., 2009), it is not documented whether these types of farms are more likely to be PRRSV negative. Our study was also mainly based on commercial sites. Results should not be extrapolated to multipliers or nucleus sites; better

observance of biosecurity practices in this type of production could potentially lead to a greater effect of measures compared to commercial sites.

A single interviewer performed all the questionnaires with people working directly on the site to decrease the information bias. Furthermore, most questions referred to the current period of time, decreasing recall bias, and the questionnaire was administered prior to divulgation of the results pertaining to PRRSV status assessment. However, results relied on practices as they were reported by the workers and not on direct observations rising a misclassification bias concern. People could be tempted to give the answer they were assuming to be the correct one. To that purpose, confidentiality of results was first insured. Also, the degree of compliance with the measure reported in time and by different people was not monitored and could contribute to bias the results toward a higher biosecurity level than what is really observed in reality, especially for some measures difficult to implement on the site. Supposing that endemically infected sites might have a lower compliance in biosecurity measures because they are already positive, this might have underestimated the strength of associations observed with the absence of shower and access to the site by the rendering truck but would not invalidate our findings. Imperfect diagnostic procedures could also represent a source of information bias. However, considering the high sensitivity and specificity of serological testing, which are over 97% and 99% respectively, incorrect classification of PRRSV status should be limited (Mateu et al., 2006). Sites for which it was impossible to distinguish between infection by a field virus strain or only by a vaccine strain were kept as positive sites in the analyses in order to avoid a reduction in study power, based on the hypothesis that commercial vaccination was mainly performed to control clinical signs of disease in positive sites. This methodological decision might have brought some differential misclassification if our hypothesis was not true. If these sites were negative in reality and were vaccinating because they were located in the vicinity of another positive sites, the association observed with the distance of the closest pig site might have been overestimated.

Due to expense and time limitations, a cross-sectional study was performed. Consequently, it cannot ascertain whether exposure to risk factor was prior to or after the production site became positive to PRRSV. Thus, the factors identified could be associated to the risk of new virus introduction, but also to an enhancement of disease persistence within the site and even to a procedure implemented following an outbreak of the disease. Considering the high

prevalence of the disease, the OR obtained in this study should not be interpreted as a relative risk of PRRSV infection. The population attributable fraction also normally attempts to quantify the proportion of disease incidence which is due to a particular exposure (Last, 2001). Consequently, results cannot be necessarily inferred to disease incidence reduction because prevalence data were used. The statistic also assumes that the distribution of exposure among the positive sites can be applied to the population from which the sample was taken. No selection of sites was performed in this study and therefore this should not invalidate the results. Furthermore, AFs obtained are conditional to the risk factors included in the multivariable model. It is possible that other variables not measured or other biosecurity variables might be correlated to the risk factors evaluated. That might have had overestimated the AF of each risk factor and thus, their respective impact in the study population.

Residual confounding in the final models could have occurred for variables not included through the selection strategy or not investigated. As an example, neither the density of farms in a certain neighbourhood nor their respective PRRSV status was included in the analysis. These elements could add precision on area spread phenomenon as some authors found impact of density of farms on probability to be PRRSV positive (or other respiratory diseases) or on survival time of PRRSV negative herds (Boelaert et al., 1999; Mortensen et al., 2002; Holtkamp et al., 2010a). Considering the extent of confidence intervals around main effects estimates, the presence of interaction between main effects was not tested. This could have clarify mechanisms involved through the main effects. It would be interesting, for example, to see if the effect of shower was different according to distance with closest neighbour. Due to the small number of sites included, the study could also suffer from a certain lack of power to detect risk factors with smaller effect. Large confidence intervals around main effect and AF estimates reducing the potential of comparison between exposure gives the incentive for further studies that should include larger number of farms. This would allow to define more precisely the magnitude of the associations identified, to assess presence of interaction among effects identified but also to determine the impact of applying a combination of specific biosecurity practices that often correlated which each other.

5. Conclusion

This study revealed a high prevalence of PRRSV infection among breeding sites in a moderate density area rising concern regarding potential regional control and elimination of the disease. PRRSV infected sites were associated with higher odds of large pig inventory and proximity to the closest pig site. Nevertheless, some factors having significant impact on PRRSV infection were identified and these could be modified on the site: absence of shower and allowing access to the main entrance of the site by the rendering truck. Our study also supports the use of specific biosecurity measures instead of a global score in order to evaluate the risk of PRRSV infection. Further studies should therefore be performed to identify other modifiable risk factors in a perspective of prevention and also to assess how compliance in these practices may be enhanced in order to facilitate regional control and/or elimination of the disease.

Conflict of interest

None.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FQRNT), the Fédération des producteurs de porcs du Québec (FPPQ), the Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec (CDAQ), the Centre d'insémination porcine du Québec (CIPQ) and many other swine industry partners for project funding. Special thanks to practicing veterinarians for encouraging producers to participate to the study. The authors would like to acknowledge the input from Dr. Martine Denicourt. Finally, our extended thanks to all producers for their time and interest they manifested toward the project.

References

- Albina, E., Leforban, Y., Baron, T., Plana Duran, J.P., Vannier, P., 1992. An enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Ann. Rech. Vet.* 23, 167-176.
- Amass, S.F., Clark, L.K., 1999. Biosecurity considerations for pork production units. *J. Swine Health Prod.* 7, 217-228.
- Amass, S.F., Mason, P.W., Pacheco, J.M., Miller, C.A., Ramirez, A., Clark, L.K., Ragland, D., Schneider, J.L., Kenyon, S.J., 2004. Procedures for preventing transmission of foot-and-mouth disease virus (O/TAW/97) by people. *Vet. Microbiol.* 103, 143-149.
- Baptista, F.M., Alban, L., Nielsen, L.R., Domingos, I., Pomba, C., Almeida, V., 2010. Use of herd information for predicting Salmonella status in pig herds. *Zoonoses and Public Health* 57 Suppl 1, 49-59.
- Barrington, G.M., Allen, A.J., Parish, S.M., Tibary, A., 2006. Biosecurity and biocontainment in alpaca operations. *Small Rumin. Res.* 61, 217-225.
- Bates, T.W., Thurmond, M.C., Carpenter, T.E., 2001. Direct and indirect contact rates among beef, dairy, goat, sheep, and swine herds in three California counties, with reference to control of potential foot-and-mouth disease transmission. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1121-1129.
- Boelaert, F., Deluyker, H., Maes, D., Godfroid, J., Raskin, A., Varewijck, H., Pensaert, M., Nauwynck, H., Castryck, F., Miry, C., Robijns, J.M., Hoet, B., Segers, E., Van Vlaenderen, I., Robert, A., Koenen, F., 1999. Prevalence of herds with young sows seropositive to pseudorabies (Aujeszky's disease) in Northern Belgium. *Prev. Vet. Med.* 41, 239-255.
- Boklund, A., Alban, L., Mortensen, S., Houe, H., 2004. Biosecurity in 116 Danish fattening swineherds: descriptive results and factor analysis. *Prev. Vet. Med.* 66, 49-62.
- Brady, A.R., 1998. Adjusted population attributable fractions for logistic regression. *Stata Technical Bulletin* 7, 8-12.
- Cavanagh, D., 1997. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Arch. Virol.* 142, 629-633.
- Cheon, D.S., Chae, C., Lee, Y.S., 1997. Seroprevalence of antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus using enzyme-linked immunosorbent assay in selected herds in Korea. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 434-436.

- Christensen, L.S., Mousing, J., Mortensen, S., Soerensen, K.J., Strandbygaard, S.B., Henriksen, C.A., Andersen, J.B., 1990. Evidence of long distance airborne transmission of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus. *Vet. Rec.* 127, 471-474.
- Christianson, W.T., Joo, H.S., 1994. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a review. *J. Swine Health Prod.* 2, 10-28.
- Costard, S., Porphyre, V., Messad, S., Rakotondrahanta, S., Vidon, H., Roger, F., Pfeiffer, D.U., 2009. Multivariate analysis of management and biosecurity practices in smallholder pig farms in Madagascar. *Prev. Vet. Med.* 92, 199-209.
- Dargatz, D.A., Garry, F.B., Traub-Dargatz, J.L., 2002. An introduction to biosecurity of cattle operations. *Vet. Clin. Food. Anim.* 18, 1-5.
- Dee, S., Deen, J., Pijoan, C., 2004. Evaluation of 4 intervention strategies to prevent the mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 68, 19-26.
- Dee, S., Deen, J., Rossow, K., Wiese, C., Otake, S., Joo, H.S., Pijoan, C., 2002. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather. *Can. J. Vet. Res.* 66, 232-239.
- Dee, S., Otake, S., Deen, J., 2010. Use of a production region model to assess the efficacy of various air filtration systems for preventing airborne transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*: Results from a 2-year study. *Virus Res.* 154, 177-184.
- Dee, S.A., Deen, J., Jacobson, L., Rossow, K.D., Mahlum, C., Pijoan, C., 2005. Laboratory model to evaluate the role of aerosols in the transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Rec.* 156, 501-504.
- Dee, S.A., Torremorell, M., Thompson, R., Cano, J.P., Deen, J., Pijoan, C., 2007. Evaluation of the thermo-assisted drying and decontamination system for sanitation of a full-size transport vehicle contaminated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 15, 12-18.
- Dohoo, I., Martin, W., Stryhn, H., 2003. *Veterinary epidemiologic research*. AVC Inc. University of Prince Edward Island. Charlottetown, Canada.
- Evans, C.M., Medley, G.F., Green, L.E., 2008. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in GB pig herds: farm characteristics associated with heterogeneity in seroprevalence. *BMC Vet. Res.* 4, 1-11.

- Flori, J., Mousing, J., Gardner, I., Willeberg, P., Have, P., 1995. Risk factors associated with seropositivity to porcine respiratory coronavirus in Danish swine herds. *Prev. Vet. Med.* 25, 51-62.
- Forstberg, R., 2002. The genetic diversity of European type PRRSV is similar to that of the North American type but is geographically skewed within Europe. *Virology* 299, 38-47.
- Gardner, I.A., Willeberg, P., Mousing, J., 2002. Empirical and theoretical evidence for herd size as a risk factor for swine diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 3, 43-55.
- Hermann, J., Hoff, S., Munoz-Zanzi, C., Yoon, K.J., Roof, M., Burkhardt, A., Zimmerman, J., 2007. Effect of temperature and relative humidity on the stability of infectious porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols. *Vet. Res.* 38, 81-93.
- Holtkamp, D., Polson, D., Wang, C., Melody, J., 2010a. Quantifying risk and evaluating the relationship between external biosecurity factors and PRRS-negative herd survival. In, *Proceedings of American Association of Swine Veterinarians Omaha, Nebraska*, 109-113.
- Holtkamp, D.J., Yeske, P.E., Polson, D.D., Melody, J.L., Philips, R.C., 2010b. A prospective study evaluating duration of swine breeding herd PRRS virus-free status and its relationship with measured risk. *Prev. Vet. Med.* 96, 186-193.
- Hooper, C.C., Van Alstine, W.G., Stevenson, G.W., Kanitz, C.L., 1994. Mice and rats (laboratory and feral) are not a reservoir for PRRS virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 13-15.
- Hurnik, D., Dohoo, I.R., Bate, L.A., 1994a. Types of farm management as risk factors for swine respiratory disease. *Prev. Vet. Med.* 20, 147-157.
- Hurnik, D., Dohoo, I.R., Donald, A., Robinson, N.P., 1994b. Factor analysis of swine management practices on Prince Edward Island. *Prev. Vet. Med.* 20, 135-146.
- Kristensen, C.S., Botner, A., Takai, H., Nielsen, J.P., Jorsal, S.E., 2004. Experimental airborne transmission of PRRS virus. *Vet. Microbiol.* 99, 197-202.
- Lager, K., Mengeling, W., Wesley, R., 2002. Evidence for local spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 10, 167-170.
- Lager, K.M., Mengeling, W.L., Brockmeier, S.L., 1999. Evaluation of protective immunity in gilts inoculated with the NADC-8 isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and challenge-exposed with an antigenically distinct PRRSV isolate. *Am. J. Vet. Res.* 60, 1022-1027.

- Lambert, M.E., Poljak, Z., D'Allaire, S., 2010. Classification of farrowing sites according to on-farm biosecurity practices and their geographical distribution in two swine production areas of Quebec, Canada. In, Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., Vancouver, Canada, 937.
- Larochelle, R., D'Allaire, S., Magar, R., 2003. Molecular epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Quebec. *Virus Res.* 96, 3-14.
- Last, J.M., 2001. A dictionary of epidemiology, fourth edition. Oxford University Press, New York.
- Le Potier, M.F., Blanquefort, P., Morvan, E., Albina, E., 1997. Results of a control programme for the porcine reproductive and respiratory syndrome in the French 'Pays de la Loire' region. *Vet. Microbiol.* 55, 355-360.
- Lopez-Soria, S., Maldonado, J., Riera, P., Nofrarias, M., Espinal, A., Valero, O., Blanchard, P., Jestin, A., Casal, J., Domingo, M., Artigas, C., Segales, J., 2010. Selected swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics. *Transbound Emerg. Dis.* 57, 171-179.
- MAPAQ, 2010. FLORA: Identification and registration of Quebec pig herds (data consulted in February 2010). Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). Québec, Canada.
- Mateu, E., Tello, M., Coll, A., Casal, J., Martin, M., 2006. Comparison of three ELISAs for the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Rec.* 159, 717-718.
- Meng, X.J., 2000. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Vet. Microbiol.* 74, 309-329.
- Meng, X.J., Paul, P.S., Halbur, P.G., Lum, M.A., 1995a. Phylogenetic analyses of the putative M (ORF 6) and N (ORF 7) genes of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): implication for the existence of two genotypes of PRRSV in the U.S.A. and Europe. *Arch. Virol.* 140, 745-755.
- Meng, X.J., Paul, P.S., Halbur, P.G., Morozov, I., 1995b. Sequence comparison of open reading frames 2 to 5 of low and high virulence United States isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Gen. Virol.* 76 (Pt 12), 3181-3188.
- Mortensen, S., Stryhn, H., Sogaard, R., Boklund, A., Stark, K.D., Christensen, J., Willeberg, P., 2002. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Prev. Vet. Med.* 53, 83-101.

- Mousing, J., Permin, A., Mortensen, S., Botner, A., Willeberg, P., 1997. A case-control questionnaire survey of risk factors for porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) seropositivity in Danish swine herds. *Vet. Microbiol.* 55, 323-328.
- Neumann, E.J., Kliebenstein, J.B., Johnson, C.D., Mabry, J.W., Bush, E.J., Seitzinger, A.H., Green, A.L., Zimmerman, J.J., 2005. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 385-392.
- Nodelijk, G., de Jong, M.C., Van Nes, A., Vernooy, J.C., Van Leengoed, L.A., Pol, J.M., Verheijden, J.H., 2000. Introduction, persistence and fade-out of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a Dutch breeding herd: a mathematical analysis. *Epidemiol. Infect.* 124, 173-182.
- Otake, S., Dee, S., Corzo, C., Oliveira, S., Deen, J., 2010. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet. Microbiol.* 145, 198-208.
- Otake, S., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Trincado, C., Pijoan, C., 2004. Studies on the carriage and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by individual houseflies (*Musca domestica*). *Vet. Rec.* 154, 80-85.
- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Deen, J., Molitor, T.W., Pijoan, C., 2002a. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *J. Swine Health Prod.* 10, 59-65.
- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Moon, R.D., Pijoan, C., 2002b. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes, *Aedes vexans* (Meigen). *Can. J. Vet. Res.* 66, 191-195.
- Pitkin, A., Deen, J., Dee, S., 2009. Further assessment of fomites and personnel as vehicles for mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 73, 298-302.
- Pitkin, A., Otake, S., Dee, S., 2010. The role of people and fomites in the spread of swine pathogens: Observations from a 4-year project. In, Proc. Allen D. Lemman Swine Conf.: Carlos Pijoan Symposium on Disease Eradication: The impact of People on Health Programs, St. Paul, Minnesota.
- Prieto, C., Alvarez, E., Martinez-Lobo, F.J., Simarro, I., Castro, J.M., 2008. Similarity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains to vaccine strain

- is not necessarily predictive of the degree of protective immunity conferred. *Vet. J.* 175, 356-363.
- Ribbens, S., Dewulf, J., Koenen, F., Mintiens, K., de Kruif, A., Maes, D., 2009. Type and frequency of contacts between Belgian pig herds. *Prev. Vet. Med.* 88, 57-66.
- Ribbens, S., Dewulf, J., Koenen, F., Mintiens, K., De Sadeleer, L., de Kruif, A., Maes, D., 2008. A survey on biosecurity and management practices in Belgian pig herds. *Prev. Vet. Med.* 83, 228-241.
- Rose, N., Madec, F., 2002. Occurrence of respiratory disease outbreaks in fattening pigs: relation with the features of a densely and a sparsely populated pig area in France. *Vet. Res.* 33, 179-190.
- Schurrer, J.A., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Mahlum, C., Mondaca, E., Otake, S., Fano, E., Collins, J.E., Pijoan, C., 2004. Spatial dispersal of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-contaminated flies after contact with experimentally infected pigs. *Am. J. Vet. Res.* 65, 1284-1292.
- Siegel, A.M., Weigel, R.M., 1999. Herd factors affecting the selection and success of intervention strategies in the program for eradication of pseudorabies (Aujeszky's disease) virus from Illinois swine farms. *Prev. Vet. Med.* 40, 243-259.
- Trincado, C., Dee, S., Rossow, K., Halvorson, D., Pijoan, C., 2004. Evaluation of the role of mallard ducks as vectors of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Rec.* 154, 233-237.
- Weigel, R.M., Firkins, L.D., Scherba, G., 2000. Prevalence and risk factors for infection with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) in swine herds in Illinois (USA). *Vet. Res.* 31, 87-88.
- Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Pirtle, E.C., Wills, R.W., Sanderson, T.J., McGinley, M.J., 1997. Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species. *Vet. Microbiol.* 55, 329-336.

Tables

Table IX. Descriptive statistics for herd and neighbourhood characteristics for breeding sites in Estrie, Quebec, Canada (52 sites; belonging to 45 independent producers, 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)

Variables	Breeding sites n=52
Categorical variables	n (%)
Production type	
Farrow-to-wean	11 (21)
Farrow-to-grow	8 (15)
Farrow-to-finish	33 (63)
Ownership	
Independent	48 (92)
Contract producer	4 (8)
Pig flow in farrowing rooms	
All-in all-out	32 (62)
Continuous flow	20 (38)
Distance from public road (m)	
>300	13 (25)
≤300	39 (75)
Continuous variables	median (Q1-Q3)
Total number of sows ^a	233 (160-405)
Total number of animals ^b	1269 (824-2288)
Heat producing unit (HPU) ^c	261 (167-422)
Distance from closest pig site (km)	2.5 (0.9-4.0)

^a Unbred gilts excluded

^b Total of gilts, sows, piglets and finishing pigs.

^c 1 HPU= 1000 watts at 20°C; calculated using the following equation, $HPU=0.17*(\text{weaners and/or finishers}) + 0.30*(\text{gilts or sows})$ (Flori et al., 1995)

Table X. Descriptive statistics for predictors tested for association with PRRS positive status for breeding sites in Estrie, Quebec, Canada (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)

Description of predictors	Category	Number of sites	Number of positive sites (%)
Herd and neighbourhood characteristics of sites			
Heat producing unit (HPU) ^a	≤300	31	19 (61)
	>300	21	19 (90)
All-in all-out pig flow in farrowing rooms	Yes	32	24 (75)
	No	20	14 (70)
Distance from public road (m)	>300	13	7 (54)
	≤300	39	31 (79)
Distance from closest pig site (km)	>2.5	25	15 (60)
	≤2.5	27	23 (85)
Specific biosecurity practices			
<i>Layout of the site</i>			
Barrier at the entrance of the site, closed at any time	Yes	1	0(0)
	No	51	38 (75)
Distance of parking from closest barn (m)	>30	4	2 (50)
	≤30	48	36 (75)
Fence surrounding the site perimeter	Yes	1	1(100)
	No	51	37 (73)
<i>Entrance protocol for people</i>			
No-entry sign on the entrance door	Yes	35	27 (77)
	No	17	11 (65)
Locked doors at all times	Yes	17	10 (59)
	No	35	28 (80)
Doorbell at the entrance	Yes	20	13 (65)
	No	32	25 (78)
Shower at the entrance	Yes	10	4 (40)
	No	42	34 (81)
Separation between clean and contaminated areas (shower, line, bench)	Yes	16	8 (50)
	No	36	30 (83)
Downtime for visitors (hrs)	≥24	30	20 (67)
	<24	22	18 (82)
No employee in contact with pigs from other sites, pigs in transport or slaughterhouses	Yes	9	9 (100)
	No	43	29 (67)
<i>Transportation of animals</i>			
Truck washed between loads of pigs	Yes	15	9 (60)
	No	37	29 (78)
Own transport (absence of commercial transport)	Yes	2	1 (50)
	No	50	37 (74)
Access to barn(s) by the driver of commercial company	Yes	6	4 (67)
	No	46	34 (74)

Pigs re-entering the barn after loading	Yes	7	5 (71)
	No	45	33 (73)
<i>Dead pig, pest and manure management</i>			
Incinerator, burying or composting (no rendering)	Yes	19	11 (58)
	No	33	27 (82)
Access to the site by rendering truck	Yes	26	23 (88)
	No	26	15 (58)
Rodent control performed by exterminator	Yes	35	28 (80)
	No	17	10 (59)
Bird-proofed wire screens in barn(s)	Yes	35	27 (77)
	No	17	11 (65)
Access of dog and cat within the barn(s)	Yes	5	4 (80)
	No	47	34 (72)
Manure provided from other sites spread on the site	Yes	3	2 (67)
	No	49	36 (73)
<i>Feed, semen and gilt deliveries</i>			
Access to barn by feed delivery personnel	Yes	14	12 (86)
	No	38	26 (68)
Purchase of semen	Yes	47	33 (70)
	No	5	5 (100)
Access to barn by semen delivery personnel	Yes	11	8 (73)
	No	41	30 (73)
Self-replacement (no purchase of gilts)	Yes	13	10 (77)
	No	39	28 (72)
Self-replacement or purchase of gilt with quarantine	Yes	14	11 (79)
	No	38	27 (71)
Purchase of PRRS positive gilts	Yes	1	1 (100)
	No	51	37 (72)
Global biosecurity score			
Higher biosecurity pattern	Yes	22	12 (55)
	No	30	26 (87)

^a 1 HPU= 1000 watts at 20°C; calculated using the following equation, HPU=0.17*(weaners and/or finishers) + 0.30*(gilts or sows) (Flori et al., 1995)

^b Predictor associated (P<0.15) with PRRS positive status using univariable logistic regression with robust SE on ownership (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company)

Table XI. Predictors associated ($P \leq 0.15$) with PRRS positive status using univariable logistic regression with robust SE on ownership (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)

Description of predictors	Odds ratio	95% (CI)	P-value
Herd and neighbourhood characteristics			
Heat producing unit >300 (HPU) ^a	6.0	1.3-27.2	0.02
Distance from public road ≤ 300 (m)	3.3	0.7-16.9	0.15
Distance from closest pig site ≤ 2.5 (km)	3.8	1.1-12.9	0.03
Specific biosecurity practices			
No locked doors at any time	2.8	0.8-9.5	0.1
No shower at the entrance	6.4	1.7-23.9	<0.01
Rendering with access to the site by rendering truck	5.6	1.5-21.7	0.01
Global biosecurity score			
Lower biosecurity pattern	5.4	1.3-21.8	0.02

^a 1 HPU = 1000 watts at 20°C; calculated using the following equation, $HPU = 0.17 * (\text{weaners and/or finishers}) + 0.30 * (\text{gilts or sows})$ (Flori et al., 1995)

Table XII. Predictors associated ($P \leq 0.05$) with PRRS positive status using two different multivariable logistic regression models with robust SE on ownership, model 1 and 2 (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)

Description of predictors	b	SE (b)	Odds ratio	95% (CI)	Wald test	P-value
Model 1^a						
(using herd/neighbourhood characteristics of sites and specific biosecurity variables)						
Intercept	-2.69					
Heat producing unit >300 (HPU) ^c	2.37	0.98	10.7	1.6-72.6	2.43	0.02
Distance from closest pig site \leq 2.5 (km)	1.98	0.73	7.3	1.7-30.6	2.70	<0.01
No shower at the entrance	2.16	0.78	8.7	1.9-39.6	2.78	<0.01
Access to the site by rendering truck	1.95	0.90	7.0	1.2-41.0	2.18	0.03
Model 2^b						
(using herd/neighbourhood characteristics of sites and global biosecurity score)						
Intercept	-0.38					
Heat producing unit > 300 (HPU) ^c	2.10	0.78	8.2	1.8-38.0	2.68	<0.01
Distance from closest pig site \leq 2.5 (km)	1.67	0.67	5.3	1.4-19.8	2.50	0.01

^a Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test, $P=0.88$

^b Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test, $P=0.49$

^c 1 HPU= 1000 watts at 20°C; calculated using the following equation, $HPU=0.17*(\text{weaners and/or finishers}) + 0.30*(\text{gilts or sows})$ (Flori et al., 1995)

Table XIII. Population attributable fraction (AF) obtained from model 1 (52 sites; belonging to 45 independent producers and 1 integrated swine company; September 2006-August 2008)

Description of predictors	AF	SE (AF)	95% (CI) ^a
Model 1			
(using herd/neighbourhood characteristics of sites and specific biosecurity variables)			
Heat producing unit >300 (HPU) ^b	0.08	0.05	0.01-0.17
Distance from closest pig site ≤2.5 (km)	0.16	0.07	0.01-0.29
Absence of shower at the entrance	0.27	0.10	0.06-0.43
Access to the site by rendering truck	0.10	0.05	0.00-0.20
Summary attributable fraction	0.91	0.06	0.65-0.98

^a CI calculated on log (1-AF) scale

^b1 HPU= 1000 watts at 20°C; calculated using the following equation, HPU=0.17*(weaners and/or finishers) + 0.30*(gilts or sows) (Flori et al., 1995)

Chapitre 4

Correlation among genetic, Euclidean and temporal distances and ownership of porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains in a high density of swine production area in Quebec, Canada

Marie-Ève Lambert^a, Julie Arsenault^a, Zvonimir Poljak^b, and Sylvie D'Allaire^a

^aFaculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, St. Hyacinthe, Quebec, Canada

^bDepartment of Population Medicine, Ontario Veterinary College, University of Guelph, Ontario, Canada

Article soumis aux fins de publication dans la revue:

International Journal of Health Geographics

Abstract

Background: The economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) on swine industry compels us to improve our knowledge on its epidemiology with the aim of prevention. The objectives of this study were to describe the genetic diversity and to assess the correlation among genetic, Euclidean and temporal distances and ownership to better understand pathways of transmission.

Methods: A cross-sectional study was conducted on all sites located in a high density area in Quebec. ORF5 sequencing was attempted on PRRSV positive sites and wild-type PRRSV strains were analyzed. Each site was compared to the others for genetic, Euclidean, temporal and ownership distances. Pairwise combinations of strains having $\geq 98\%$ homology were analysed according to Euclidean distances and ownership. Bivariate correlations between genetic, Euclidean and temporal distances and ownership were assessed using Mantel tests on continuous and binary matrices. Sensitivity of the correlations between genetic and Euclidean and between genetic and temporal distances was evaluated using correlograms for different Euclidean and temporal thresholds.

Results: An ORF5 sequence was identified for 132 out of the 176 (75%) PRRSV positive sites between February 2005 and June 2007; 122 were wild-type strains. The mean (min-max) genetic, Euclidean and temporal pairwise distances were 11.6% (0-18.7), 15.0 km (0.04-45.7) and 218 days (0-852), respectively. Significant positive correlations were observed between genetic and ownership, genetic and Euclidean and between genetic and temporal binary distances. Correlation between genetic and ownership suggests either common sources of animals or semen, employees, technical services or vehicles, whereas that between genetic and Euclidean binary distances is compatible with area spread. The latter correlation was observed only up to 5 km and emphasized the importance to evaluate the correlation using different Euclidean thresholds.

Conclusions: The extent of genetic diversity, the proximity and high density of sites and the coexistence of independent producers and different integrated companies complicate PRRSV

regional management in this 20 km radius area. The study brought important information regarding PRRS epidemiology needed in a perspective of prevention.

Keywords: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), ORF5 sequences, genetic distances, Mantel test, correlation

Background

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is a viral disease representing one of the most challenging threats to swine industry. This disease has a major economic impact, inducing later-term abortions, stillbirths, mummified and weak piglets in breeding herds and respiratory disease, increased mortality rate and poor growing performances in growing pigs [1, 2].

PRRS is caused by a spherical, enveloped, single-stranded and positive-sense RNA virus belonging to the family of *Arteriviridae* within the genus *Arterivirus* and the order *Nidovirales* [3]. An important genetic and antigenic diversity of PRRSV strains is reported within and among the European (EU) and North American (NA) genotypes [4, 5]. This extended genetic diversity seriously impairs PRRSV management, as only partial protective immune response is obtained after experimental heterologous challenge [6-8]. Both modified-live vaccines currently available are based on a single PRRSV strain each. Consequently, the control of PRRSV is mostly directed toward a better understanding of the mechanisms of transmission of the virus between herds in order to put forward preventive measures.

The transmission of the virus between herds could occur through several mechanisms, including the introduction of infected animals or semen [9-14]. Contaminated vehicles can also serve as mechanical vectors to transmit the virus as they can convey the virus on significant distances on their wheels [15, 16]. Moreover, the proximity or high density of pig sites in neighbourhood is a risk factor for PRRS, which might be related to a local transmission by aerosols, insects, waterfowl, and other animals [10, 17-22]. Fomites as boots, coveralls or other equipments conveyed by people could contribute as well to area spread of PRRSV [17, 23, 24].

Based on the premise that PRRSV strains sharing a high level of homology is suggestive of a common source of infection, molecular epidemiology can help improving our understanding of mechanisms of PRRSV dispersion over space and time [25, 26]. The objectives of this study were to describe the genetic diversity observed according to particular characteristics of production sites and to assess the correlation between genetic, Euclidean and temporal distances and ownership to suggest different pathways for PRRSV transmission in a high density area of swine production.

Methods

Study design, data collection and laboratory analyses

A cross-sectional study was conducted in the Monteregie administrative region in the province of Quebec, Canada, between February 2005 and June 2007. Within this region, a high density area (HD) was purposely targeted for a larger project on transmission and control of PRRSV, and corresponded to 10 adjacent municipalities (354 pigs/km², Identification and registration of Quebec pig herds database [27]). In order to select all sites located in the HD area, all producers listed into the Quebec Federation of Pork Producers (FPPQ) database were contacted. A written description of the project and a participation form to sign and return were initially sent to them. Participation was obtained through a voluntary basis. A site was defined as one or more units located within 300 m from another, belonging to the same owner (individual or corporate), and having the same animal source(s). Data were gathered on different herd and neighbourhood characteristics of the sites and geographical coordinates (latitude/longitude) were obtained using global positioning system (GPS). Assessment of PRRSV status of sites varied according to PRRS history and clinical signs at the time of sampling as described by Lambert et al. 2010 (submitted). The source population of the current study consisted of 176 PRRSV positives sites on which open reading frame 5 (ORF5) sequencing was attempted. PCR products were purified before sequencing with Qiaquick spin kit (Qiagen). Sequencing of ORF5 was done on both directions of PCR products using amplification primers with BigDye terminator on ABI PRISM 310 Genetic analyzer (Applied Biosystems Canada, Streetsville, Ontario, Canada). All diagnostic procedures were done at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Montreal in St. Hyacinthe. The procedures were approved by the Comité d'éthique de l'utilisation des animaux of the University of Montreal (certificate number: 09-rech-1291).

Statistical analyses

ORF5 sequences having $\geq 98\%$ pairwise homology with MLV (Ingelvac® PRRS MLV or ReproCyc® PRRS-PLE, Boehringer Ingelheim, (Canada) Ltd.) or ATP (Ingelvac® PRRS ATP, Boehringer Ingelheim, (Canada) Ltd.) commercial vaccines strains were excluded from further analyses whereas the remaining sequences were considered as wild-type strains.

1. Calculation of various distances

For each pair of sites, the genetic, Euclidean, temporal and ownership distances were calculated. Pairwise genetic distances were defined as the percentage of homologous nucleotides between sequences. It was calculated from nucleotides using Juke and Cantor substitution model in Bionumerics software (Applied Maths Inc., version 6.5, Austin, TX, USA), following a pairwise alignment of ORF5 sequences. For the Euclidean distances, geographical coordinates (latitude/longitude) of the sites were transformed in metric units using Quebec Lamber Conic Conform projection in ArcInfo (Esri, version 9.3, Redlands, CA, USA). Pairwise Euclidean distances between sites were then calculated in SAS (SAS Institute Inc. version 9.1, Cary, NC, USA) using the projected coordinates [28]. Pairwise temporal distances were defined as the number of days separating the sampling of strains. Pairs of sites were classified as having the same ownership if they were from the same independent producer or integrated production system, and as having different ownership otherwise.

2. Descriptive statistics

Descriptive statistics on herd characteristics were performed in SAS. Means of genetic, Euclidean and temporal pairwise continuous distances were calculated. Number of pairwise combinations of strains having $\geq 98\%$ homology over total number of combinations was computed according to different Euclidean distance thresholds (≤ 5 km, 5 to ≤ 10 km, > 10 km) and ownership (same vs. different). The Euclidean distance thresholds were defined according to the literature. A distance of less than 5 km representing potentially most mechanisms acting on a local scale as aerosols, insects, mammals species and fomites, whereas transmission occurring at more than 10 km apparently necessitates human interventions, since infectious virus was not identified in aerosols at more than 9.1 km from a population source [22].

3. Correlation analysis

Bivariate Mantel tests for genetic, Euclidean, temporal continuous distances and ownership were computed in R (R Foundation for Statistical Computing, version 2.9, Vienna, Austria) using vegan package and Pearson correlation coefficient [29]. Bivariate Mantel tests were also computed to assess the correlation between genetic, Euclidean, temporal binary distances and ownership. Dichotomization was performed as follows: genetic distance $\geq 98\%$ vs. $< 98\%$ homology), Euclidean distance ≤ 5 vs. > 5 km), temporal distance (≤ 1 vs. > 1 month), and ownership (same vs. different). On binary matrices, significant correlations with genetic

distance were also evaluated after adjustment for other distances using partial Mantel test. Correlations having P-value ≤ 0.05 after 9999 permutations of matrices were considered significant. In view of the discrepancy of the correlations observed between genetic and Euclidean distances when using continuous or binary matrices, the sensitivity of results to the selection of different thresholds was further investigated. The bivariate correlation between genetic and Euclidean binary distances and between genetic and temporal binary distances was examined using Mantel test for thresholds ranging from 1 to 20 km by km and from 1 to 12 months by month, respectively. Results were presented into correlograms made in R. For each correlogram, the level of significance for individual tests was adjusted using Bonferroni procedure to account for multiple testing to obtain a family level of significance of $\alpha=0.05$ [30]. In both correlograms, the sensitivity of the results to other homology thresholds (96%, 97%) was also evaluated.

Results

An ORF5 sequence was identified for 132 out of the 176 (75%) infected sites. ORF5 sequences having $\geq 98\%$ homology with MLV ($\geq 98.67\%$) and ATP ($\geq 99.17\%$) vaccines strains were observed for seven and three sites, respectively. On these latter sites, confirmed or highly suspected commercial vaccination was performed. Consequently, 10 sites composed of two farrow-to-finish and eight weaners and/or finishers operations were excluded from further analyses, the remaining 122 sequences being considered as wild-type PRRSV strains. Table XIV described herd and neighbourhood characteristics of sites (n=122). Sites were managed by an independent producer or by an integrated company on 65% and 35% of the sites, respectively. The 43 integrated sites belonged to 8 companies, with one owning 53% of the sites. Independently owned sites (n=79) were managed by 60 different producers; 45, 11 and 4 producers managing 1, 2 or 3 sites, respectively. Production sites were attended by 23 different veterinarians.

All wild-type ORF5 sequences belonged to the North American genotype and most sequences (92%) had a length of 603 bp with the exception of 7 strains presenting insertion (606 bp) or 3-base deletions (600 bp). The mean (min-max) genetic, Euclidean and temporal pairwise distances were 11.6% (0-18.7), 15.0 km (0.04-45.7) and 218 days (0-852), respectively. Among the 122 wild-type PRRSV strains, 62 (51%) did not show any $\geq 98\%$ pairwise genetic homology with other (s) sequence (s), 34 (28%) showed this latter homology with one strain only and 26

(21%) with more than one strain. Using dichotomized distances, proportion of pairwise combinations of strains sharing $\geq 98\%$ homology over total number of combinations is revealed in Table XV according to ownership (same vs. different) and Euclidean distance using different threshold (≤ 5 km, >5 to ≤ 10 km, >10 km).

Bivariate correlations between genetic, Euclidean and temporal continuous distances were computed on the 122 PRRSV wild-type strains using 7381 different pairwise combinations. Results are shown in Table XVI. No significant correlation was observed between genetic and Euclidean continuous distances and between Euclidean and temporal continuous distances ($P > 0.05$). However, positive correlations were identified between genetic and temporal continuous distances and between genetic continuous distance and ownership ($P \leq 0.01$). Bivariate correlations obtained using genetic ($\geq 98\%$, $< 98\%$ homology), Euclidean (≤ 5 , > 5 km), temporal (≤ 1 , > 1 month) binary distances and ownership (same, different) are also presented in Table XVI. Significant correlations involving genetic distances were marginally influenced by adjustment for any of the other binary distances using the Partial Mantel Test (Table XVII). Figure 7 shows a spatial correlogram of Mantel test statistic (r_m) obtained between binary matrices of genetic and Euclidean distances for different Euclidean threshold. Significant positive correlations were observed up to 5 km, whereas non significant correlations were noted for any other superior threshold (up to 40 km). Positive correlations between genetic and temporal binary distances were observed for 11 months, being not significant thereafter (Figure 8).

Discussion

The mean pairwise genetic distance among PRRSV strains was considerable (11.6%), which is almost the double of the 6.5% genetic diversity obtained for 55 sequences submitted by 48 farms from the Midwest of United States [26]. The maximum genetic distance also exceeded the 12% mentioned in another report using sequences from 62 individual farms belonging to a single pork-producing company in South Dakota [25]. These latter studies did not indicate whether vaccine-like strains were excluded from their computations and were conducted in a small number of sites, both elements could have contributed to lower the mean and extent of genetic diversity. Surprisingly, for the small geographical and temporal frames, our results were rather closed to the 12.5% average pairwise diversity obtained in phylogenetic analyses of 8624

ORF5 sequences gathered world-wide from the North American, Asian and European continents and over more than 15 years [31].

We observed a correlation between genetic distance and ownership, which to the best of our knowledge has never been explored before. About 16 times more pairwise combinations of strains sharing $\geq 98\%$ homology were observed for sites having the same owner compared to those having different owners (Table XV). Results were also corroborated by the Mantel tests showing that sites managed by same owner globally had more often $\geq 98\%$ homology, even adjusting for Euclidean distance (Tables XVI and XVII). It could suggest that either common sources of animals or semen, employees, technical services or vehicles could be important pathways of transmission. Observational studies show that introduction of infected animal is an important risk factor for PRRSV positive status [9, 10]. Using molecular epidemiology, common source of pigs was also frequently suspected between herds having homologous strains [11, 32]. Furthermore, PRRSV can survive on fomites as boots, coveralls and vehicles allowing common employees or personnel from technical services to convey the virus between different sites belonging to the same producer or pig company [15, 23, 24]. As the exact source of pigs for each site was not available, the variable ownership was our best asset to examine the correlations but it resulted in difficulties in identifying precisely the mechanism(s) involved behind the concept of ownership. For independent producers, multi-site production system designed for early segregated weaning [33] would fit the assumption of a common animal source. In contrast, the use of ownership oversimplified the pyramidal structure of integrated systems.

Two to three times more combinations of strains having $\geq 98\%$ homology were observed in pairs of sites located at ≤ 5 km from each other compared to others, and this association was supported by the Mantel using binary distances (Table XV, XVI and XVII). Area spread represents between-herd transmission occurring without any pig contact, rather involving aerosols, insects, other avian or mammalian mechanical vectors or fomites [11, 34]. Area spread is frequently suspected among herds having similar strains in Quebec as well as in different states in United States [11, 25, 34]. Descriptive results in Table XV suggested that area spread outside ownership is minor compared to within the same ownership. In this latter case, the correlation might also be due to other modes of transmission mentioned above as common source of animals. Researchers from Illinois obtained similar results as in our study

and did not observe any correlation between genetic and geographical proximity when using continuous matrices based on 55 ORF5 sequences submitted over a two-year period [26]. However, Mantel test is based on a linear correlation and hence nonlinear relationship may be lost using that technique [35]. Therefore, a significant correlation limited to a particular scale might be diluted by inclusion of other distances leading to an overall absence of correlation. In attempt to avoid such issues in this study, the binary matrices were also used. Using binary matrices of distances lead to conclusive results, revealing impact of geographical scale in the assessment of the correlation between genetic and Euclidean distances of PRRSV strains. Interestingly, when examining the temporal correlogram, the relationship was more linear than the one for genetic and Euclidean distances, which might explain that correlations were significant for both binary and continuous matrices of distances.

Our results showed that correlation between genetic and Euclidean distances varied according to Euclidean thresholds, decreasing rapidly and almost linearly up to 5 km, to become not significant thereafter (Figure 7). The closer the herds are, more likely they are to share homologous strains and these findings might be related to several pathways of transmission. Indeed, the virus can be transmitted through aerosols up to 9.1 km [22, 36]. Mechanical transmission to susceptible pigs by mosquitoes and houseflies is demonstrated [19, 20] and infectious PRRSV can be conveyed by houseflies up to 2.3 km [37]. Others also mention a fly territory of 3.2 km², and potentially more depending of feeding and/or mating sites [38]. Rodents, wild and domestic animals are not considered biologic vectors of PRRSV [39, 40], but their potential role in PRRSV mechanical transmission on short distances should be assessed. The same should be determined for birds, since discrepancy was found regarding their importance in terms of biological vector [21, 41]. In addition to live vectors, inert fomites such as boots, coveralls or other equipments conveyed by people combined with absence of biosecurity measures or vehicles could contribute as well to area spread of PRRSV [15, 17, 23, 24]. Consequently, higher correlation coefficients observed at smaller geographical distances could be attributed to the summation of different short-distance processes. The decrease of the strength might be associated with the fact that particular pathways of transmission are no more compatible with longer distance. A dilution effect due to virus survival is also to be considered as greater Euclidean distances favour longer exposure to adverse environmental conditions; greater vulnerability of PRRSV to ultraviolet light, elevated temperature and/or humidity is demonstrated [42-44].

The positive correlation observed between genetic and temporal distances is compatible with genetic evolution over the territory on two year period of observation and was observed by others [26]. Because of the cross-sectional design, the sampling time did not necessarily correspond to the moment of the virus introduction on the site. Consequently, we cannot infer to the real temporal process of transmission between farms. However, data had to be explored in order to describe what can be found over the territory. According to the capacity of the virus to mutate over time and considering that new viruses can be introduced into the area through animal sources or transportation, we could expect a certain level of evolution of the viruses present on the territory. The correlation was decreasing slowly and was observed up to 11 months. This could indicate that virus populations are changing over time and that certain viruses might persist on the territory over about 1 year. The time frame for which sequences were obtained was quite large. It could partially explain the low frequency of homologous PRRSV strains observed on the territory. Indeed, compared to short time interval between sampling time, large intervals between samples could have lead to the possibility of new virus introduction or to mutation of the virus within herds.

This study has some limitations. Some producers did not want to participate in the survey whereas others could not be contacted. The fairly good participation rate (78%) improved the internal validity of the study, but total absence of selection bias was impossible to assess. Moreover, underestimation of our participation is possible as some unreached producers might have been out of business. Even if the sampling strategy used on sites with PRRS history was performed in order to maximise the probability of identifying a PRRSV strain, it was not possible to identify a sequence for 25% of the PRRSV positive sites. We cannot insure that these latter sites would not have modified the extent of genetic diversity. Furthermore, only one PRRSV strain was identified per site, assuming the existence of a sole viral strain or at least getting the most dominant strain. Studies show that more than one strain can co-exist on a site, even if not frequently reported [11, 45]. Analyses were performed using ORF5 gene based on its high genomic variability and its previous use into molecular epidemiology studies on North American PRRSV strains [25, 46, 47] or into studies assessing the extent of genetic diversity [48, 49]. However, ORF5 gene is only a part of the whole 15 000 kb genome [50]. It could be interesting to use the entire genome to assess the potential impact of this decision on this kind of analyses.

This study attempted to involve all sites located in restricted geographical scale to obtain more precision in exploring area spread compared to other studies [25, 26]. However, the fact that about 50% of PRRSV strains gathered in this sample did not show any homology with other PRRSV strains should motivate additional studies to address the impact of other mechanisms of transmission acting on a larger scale and involving human intervention such as pig transportation. Furthermore, even if our general conclusions were not influenced by the selection of genetic homology threshold, what consist in of similar or dissimilar PRRSV strains is particularly subjective. Most experimental studies evaluating the impact of heterologous or homologous challenge used highly similar or dissimilar PRRSV strain, respectively [8, 51]. Our genetic homology threshold for similar strains ($\geq 98\%$) was chosen according to a previous molecular epidemiological study [11]. It reveals that when introduction of infected pigs was reported as the epidemiologic link between farms, homology between PRRSV strains was always $\geq 98\%$ [11].

The extent of genetic diversity revealed through this study over a particularly small area of about 20 km radius could certainly contribute to enhance challenge of PRRSV management [6]. In fact, the important number of participating sites for which $\geq 98\%$ homology was observed with other PRRSV strains represents a serious potential for PRRSV transmission between sites within the area. The impact of this genetic diversity on PRRSV regional control feasibility is difficult to anticipate since previous initiatives did not report the diversity originally found within the targeted zone [52-54]. Furthermore, in addition to the 354 pigs/km² density and the proximity of closest pig site, 85% of the sites were located at ≤ 300 m from the public road which could favour indirect transmission either through contaminated wheels or through aerosols coming from trucks transporting pigs [15, 22]. In Quebec, the importance of this latter pathway on PRRSV regional dissemination is difficult to estimate since itinerary of different types of vehicles are unknown. Finally, the combination of independent producers and sites from different integrated companies adds complexity in controlling the disease regionally, since involvement, collaboration and communication between industry partners are critical for success of these initiatives [52, 53]. However, the current study brought key elements to fight against transmission. In fact, the geographical extent of the correlation is interesting in terms of organizing subgroups of producers. Sites located within 5 km from each other should be particularly aware that similar PRRSV strain can circulate among them and should therefore enhance their protection using external biosecurity and air filtration systems

[55]. Subgroups should also be performed to pay attention to pig flow and different fomites involved through common ownership.

Conclusions

The study brought important information regarding PRRS epidemiology needed in a perspective of prevention. In fact, mechanisms of transmission involved through common ownership and area spread should be both addressed in a perspective of regional control strategy. However, the importance of genetic diversity, pig density and presence of important number of different unrelated producers and integrated producers could seriously complicate regional interventions in the area investigated.

Competing interests

None.

Authors' contributions

MEL co-designed the study, undertook the data collection, did the statistical analyses, interpreted the data and realized the first draft of the paper.

JA participated in consultations regarding statistical analyses, commented on the interpretation of results and co-wrote the paper.

ZP participated in consultations regarding statistical analyses and commented on the interpretation of results.

SD co-designed the study, participated in the interpretation of data and co-wrote the paper.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FQRNT), the Fédération des producteurs de porcs du Québec (FPPQ), the Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec (CDAQ), the Centre d'insémination porcine du Québec (CIPQ) and many other swine industry partners for project funding. Special thanks to practicing veterinarians for encouraging producers to participate in the study and to the molecular diagnostic laboratory of Faculty of Veterinary Medicine of University of Montreal. The authors would like to acknowledge the input from Benjamin Delisle. Finally, our extended thanks to all producers for their time and interest they manifested toward the project.

References

1. Christianson WT, Joo HS: **Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a review.** *J Swine Health Prod* 1994, **2**:10-28.
2. Neumann EJ, Kliebenstein JB, Johnson CD, Mabry JW, Bush EJ, Seitzinger AH, Green AL, Zimmerman JJ: **Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States.** *J Am Vet Med Assoc* 2005, **227**(3):385-392.
3. Cavanagh D: **Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae.** *Arch Virol* 1997, **142**(3):629-633.
4. Kapur V, Elam MR, Pawlovich TM, Murtaugh MP: **Genetic variation in porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates in the midwestern United States.** *J Gen Virol* 1996, **77 (Pt 6)**:1271-1276.
5. Wensvoort G, de Kluyver EP, Luitze EA, den Besten A, Harris L, Collins JE, Christianson WT, Chladek D: **Antigenic comparison of Lelystad virus and swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus.** *J Vet Diagn Invest* 1992, **4**(2):134-138.
6. Meng XJ: **Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development.** *Vet Microbiol* 2000, **74**(4):309-329.
7. Lager KM, Mengeling WL, Brockmeier SL: **Evaluation of protective immunity in gilts inoculated with the NADC-8 isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and challenge-exposed with an antigenically distinct PRRSV isolate.** *Am J Vet Res* 1999, **60**(8):1022-1027.
8. Cano JP, Dee SA, Murtaugh MP, Pijoan C: **Impact of a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine intervention on a population of pigs infected with a heterologous isolate.** *Vaccine* 2007, **25**(22):4382-4391.
9. Le Potier MF, Blanquefort P, Morvan E, Albina E: **Results of a control programme for the porcine reproductive and respiratory syndrome in the French 'Pays de la Loire' region.** *Vet Microbiol* 1997, **55**(1-4):355-360.

10. Mortensen S, Stryhn H, Sogaard R, Boklund A, Stark KD, Christensen J, Willeberg P: **Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus.** *Prev Vet Med* 2002, **53**(1-2):83-101.
11. Larochelle R, D'Allaire S, Magar R: **Molecular epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Quebec.** *Virus Res* 2003, **96**(1-2):3-14.
12. Pesente P, Rebonato V, Sandri G, Giovanardi D, Ruffoni LS, Torriani S: **Phylogenetic analysis of ORF5 and ORF7 sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) from PRRS-positive Italian farms: a showcase for PRRSV epidemiology and its consequences on farm management.** *Vet Microbiol* 2006, **114**(3-4):214-224.
13. Yaeger MJ, Prieve T, Collins J, Christopher-Hennings J, Nelson E, Benfield D: **Evidence for the transmission of porcine reproduction and respiratory syndrome (PRRS) virus in boar semen.** *J Swine Health Prod* 1993, **1**:7-9.
14. Christopher-Hennings J, Nelson EA, Hines RJ, Nelson JK, Swenson SL, Zimmerman JJ, Chase CL, Yaeger MJ, Benfield DA: **Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars.** *J Vet Diagn Invest* 1995, **7**(4):456-464.
15. Dee S, Deen J, Rossow K, Wiese C, Otake S, Joo HS, Pijoan C: **Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather.** *Can J Vet Res* 2002, **66**(4):232-239.
16. Dee SA, Deen J, Otake S, Pijoan C: **An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs.** *Can J Vet Res* 2004, **68**(2):128-133.
17. Holtkamp D, Polson D, Wang C, Melody J: **Quantifying risk and evaluating the relationship between external biosecurity factors and PRRS-negative herd survival.** In: *Proceedings of American Association of Swine Veterinarians 2010; Omaha, Nebraska*; 2010: 109-113.
18. Pitkin A, Deen J, Otake S, Moon R, Dee S: **Further assesement of houseflies (*Musca domestica*) as vectors for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus under field conditions.** *Can J Vet Res* 2009, **73**:91-96.

19. Otake S, Dee SA, Moon RD, Rossow KD, Trincado C, Pijoan C: **Studies on the carriage and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by individual houseflies (*Musca domestica*)**. *Vet Rec* 2004, **154**(3):80-85.
20. Otake S, Dee SA, Rossow KD, Moon RD, Pijoan C: **Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes, *Aedes vexans* (Meigen)**. *Can J Vet Res* 2002, **66**(3):191-195.
21. Zimmerman JJ, Yoon KJ, Pirtle EC, Wills RW, Sanderson TJ, McGinley MJ: **Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species**. *Vet Microbiol* 1997, **55**(1-4):329-336.
22. Otake S, Dee S, Corzo C, Oliveira S, Deen J: **Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants**. *Vet Microbiol* 2010, **145**:198-208.
23. Otake S, Dee SA, Rossow KD, Deen J, Molitor TW, Pijoan C: **Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls)**. *J Swine Health Prod* 2002, **10**(2):59-65.
24. Pitkin A, Deen J, Dee S: **Further assessment of fomites and personnel as vehicles for mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus**. *Can J Vet Res* 2009, **73**:298-302.
25. Mondaca-Fernandez E, Murtaugh MP, Morrison RB: **Association between genetic sequence homology of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus and geographic distance between pig sites**. *Can J Vet Res* 2006, **70**(3):237-239.
26. Goldberg TL, Hahn EC, Weigel RM, Scherba G: **Genetic, geographical and temporal variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Illinois**. *J Gen Virol* 2000, **81**(Pt 1):171-179.
27. MAPAQ: **FLORA: Identification and registration of Quebec pig herds (data consulted in February 2010)**. In: *Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ)*. Québec, Canada; 2010.
28. Everitt BS, Landau S, Leese M: **Cluster analysis**. New York: Oxford University Press; 2001.
29. Oksanen J, Kindt R, Legendre P, O'Hara B, Simpson GL, Solymos M, Stevens HH, Wagner H: **The vegan package**. 2009:1-190.
30. Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W: **Applied linear statistical models**. United States of America: McGraw-Hill/ Irwin; 1996.

31. Shi M, Lam TT, Hon CC, Murtaugh MP, Davies PR, Hui RK, Li J, Wong LT, Yip CW, Jiang JW *et al*: **Phylogeny-based evolutionary, demographical, and geographical dissection of North American type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome viruses.** *J Virol* 2010, **84**(17):8700-8711.
32. Thanawongnuwech R, Amonsin A, Tatsanakit A, Damrongwatanapokin S: **Genetics and geographical variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thailand.** *Vet Microbiol* 2004, **101**(1):9-21.
33. D'Allaire S: **Le sevrage précoce avec ségrégation des porcelets: 10 ans après, où en sommes-nous? Les experts nous répondent.** *Méd Vét Québec* 2000, **20**(4):210-213.
34. Lager K, Mengeling W, Wesley R: **Evidence for local spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus.** *J Swine Health Prod* 2002, **10**(4):167-170.
35. Legendre P, Legendre L: **Numerical ecology.** Amsterdam: Elsevier; 1998.
36. Dee SA, Deen J, Jacobson L, Rossow KD, Mahlum C, Pijoan C: **Laboratory model to evaluate the role of aerosols in the transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus.** *Vet Rec* 2005, **156**(16):501-504.
37. Schurrer JA, Dee SA, Moon RD, Rossow KD, Mahlum C, Mondaca E, Otake S, Fano E, Collins JE, Pijoan C: **Spatial dispersal of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-contaminated flies after contact with experimentally infected pigs.** *Am J Vet Res* 2004, **65**(9):1284-1292.
38. Parker RR: **Dispersion of *Musca domestica* Linnaeus under city conditions in Montana.** *J Econ Entomol* 1916, **9**(3):325-352.
39. Hooper CC, Van Alstine WG, Stevenson GW, Kanitz CL: **Mice and rats (laboratory and feral) are not a reservoir for PRRS virus.** *J Vet Diagn Invest* 1994, **6**(1):13-15.
40. Wills RW, Osorio FA, Doster AR: **Susceptibility of selected non-swine species to infection with PRRS virus.** In: *Proceedings of American Association of Swine Practitioners: 11-14 March 2000; Indianapolis, Indiana*; 2000: 411-413.
41. Trincado C, Dee S, Rossow K, Halvorson D, Pijoan C: **Evaluation of the role of mallard ducks as vectors of porcine reproductive and respiratory syndrome virus.** *Vet Rec* 2004, **154**(8):233-237.
42. Bloemraad M, de Kluijver EP, Petersen A, Burkhardt GE, Wensvoort G: **Porcine reproductive and respiratory syndrome: temperature and pH stability of**

- Lelystad virus and its survival in tissue specimens from viraemic pigs.** *Vet Microbiol* 1994, **42**(4):361-371.
43. Dee S, Otake S, Deen J: **An evaluation of ultraviolet light (UV(254)) as a means to inactivate porcine reproductive and respiratory syndrome virus on common farm surfaces and materials.** *Vet Microbiol* 2011, **150**:96-99.
 44. Hermann J, Hoff S, Munoz-Zanzi C, Yoon KJ, Roof M, Burkhardt A, Zimmerman J: **Effect of temperature and relative humidity on the stability of infectious porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols.** *Vet Res* 2007, **38**(1):81-93.
 45. Kim HK, Park SJ, Rho SM, Han JY, Nguyen VG, Park BK: **One year's study of dynamic and evolution of types I and II PRRSV in a swine farm.** *Vet Microbiol* 2011 (in press).
 46. Batista L, Pijoan C, Lwamba H, Johnson CR, Murtaugh MP: **Genetic diversity and possible avenues of dissemination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in two geographic regions of Mexico.** *J Swine Health Prod* 2003, **12**(4):170-175.
 47. Key KF, Haqshenas G, Guenette DK, Swenson SL, Toth TE, Meng XJ: **Genetic variation and phylogenetic analyses of the ORF5 gene of acute porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates.** *Vet Microbiol* 2001, **83**(3):249-263.
 48. Kim HK, Yang JS, Moon HJ, Park SJ, Luo Y, Lee CS, Song DS, Kang BK, Ann SK, Jun CH *et al*: **Genetic analysis of ORF5 of recent Korean porcine reproductive and respiratory syndrome viruses (PRRSVs) in viremic sera collected from MLV-vaccinating or non-vaccinating farms.** *J Vet Sci* 2009, **10**(2):121-130.
 49. Zhou YJ, Yu H, Tian ZJ, Li GX, Hao XF, Yan LP, Peng JM, An TQ, Xu AT, Wang YX *et al*: **Genetic diversity of the ORF5 gene of porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates in China from 2006 to 2008.** *Virus Res* 2009, **144**(1-2):136-144.
 50. Dea S, Gagnon CA, Mardassi H, Pirzadeh B, Rogan D: **Current knowledge on the structural proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: comparison of the North American and European isolates.** *Arch Virol* 2000, **145**(4):659-688.

51. Cano JP, Dee SA, Murtaugh MP, Trincado CA, Pijoan CB: **Effect of vaccination with a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine on dynamics of homologous viral infection in pigs.** *Am J Vet Res* 2007, **68**(5):565-571.
52. Corzo CA, Mondaca E, Wayne S, Torremorell M, Dee S, Davies P, Morrison RB: **Control and elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus.** *Virus Res* 2010, **154**(1-2):185-192.
53. Batista L, Fernandez M, Miramontes J, Pliego R, Mondaca M: **Advancing PRRS area regional control in the state of Sonora, Mexico.** In: *Proceedings of International pig veterinary society congress: 18-21 July 2010; Vancouver, Canada*; 2010: 274.
54. Mondaca-Fernandez E, Morrison RB: **Applying spatial analysis to a porcine reproductive and respiratory syndrome regional control programme.** *Vet Rec* 2007, **161**(4):137-138.
55. Dee S, Batista L, Deen J, Pijoan C: **Evaluation of an air-filtration system for preventing aerosol transmission of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus.** *Can J Vet Res* 2005, **69**(4):293-298.

Tables

Table XIV. Descriptive statistics for herd and neighbourhood characteristics of sites where PRRSV wild-type ORF5 sequence was identified in a high density (HD) area according to production type, Quebec, Canada (122 sites, February 2005-June 2007)

Herd and neighbourhood characteristics of sites		Breeding sites	Growing sites
		n=53	n=69
Categorical variables		%	%
Production type			
	Farrowing-to-wean	15	-
	Farrow-to-grow	6	-
	Farrow-to-finish	79	-
	Weaners	-	16
	Weaner-to-finish	-	14
	Finishers	-	70
Ownership			
	Independent producer	92	43
	Contract producer	8	57
Distance from public road			
	>300 m	6	22
	≤300 m	94	78
Continuous variables			
Number of productive sows	median (Q1-Q3)	185 (136-300)	-
Total number of animals ^a	median (Q1-Q3)	1350 (891-2020)	1550 (1000-2450)
Distance from closest pig site (m) ^b	median (Q1-Q3)	400 (220-610)	409 (200-1000)

^a Including gilts, sows, weaners and finishers if present on site

^b Approximated by the producer

Table XV. Proportion (%) of pairwise combinations $\geq 98\%$ homology according to Euclidean distance between sites and ownership (122 ORF5 sequences, 7381 different pairwise combinations; February 2005 and June 2007)

Euclidean distance	Ownership		
	Same	Different	Total
≤ 5 km	8/50 (16.0%)	7/785 (0.9%)	15/835 (1.8%)
> 5 to ≤ 10 km	8/83 (9.6%)	5/1453 (0.3%)	13/1536 (0.8%)
> 10 km	9/174 (5.2%)	20/4853 (0.4%)	29/5010 (0.6%)
Total	25/307 (8.1%)	32/7074 (0.5%)	57/7381 (0.8%)

Table XVI. Bivariate correlations between genetic, Euclidean and temporal distances and ownership computed with Mantel test procedure (122 ORF5 sequences, 7381 different pairwise combinations; February 2005 and June 2007)

Distance variable 1	Distance variable 2	r_M^a	P-value ^b
Genetic ^c	Ownership ^g	0.07	0.01
Genetic ^c	Euclidean ^c	-0.008	0.56
Genetic ^c	Temporal ^c	0.11	<0.01
Euclidean ^c	Temporal ^c	-0.009	0.58
Genetic ^d	Ownership ^g	0.17	<0.01
Genetic ^d	Euclidean ^c	0.04	<0.01
Genetic ^d	Temporal ^f	0.06	<0.01
Temporal ^f	Euclidean ^c	0.02	0.05
Temporal ^f	Ownership ^g	0.05	<0.01
Euclidean ^c	Ownership ^g	0.03	0.03

^a Mantel R test statistic using a Pearson correlation coefficient

^b P-value obtained with 9999 Monte Carlo simulations

^c Continuous distance

^d 0: $\geq 98\%$, 1: $< 98\%$ homology

^e 0: ≤ 5 km, 1: > 5 km

^f 0: ≤ 1 month, 1: > 1 month

^g 0: same, 1: different

Table XVII. Bivariate correlations between genetic, Euclidean and temporal binary distances and ownership computed with Partial Mantel test procedure (122 ORF5 sequences, 7381 different pairwise combinations; February 2005 and June 2007)

Distance variable 1	Distance variable 2	Distance variable 3	r_M^a	P-value ^b
Genetic ^c	Euclidean ^d	Ownership ^f	0.04	<0.01
		Temporal ^e	0.04	0.02
Genetic ^c	Ownership ^f	Euclidean ^d	0.17	<0.01
		Temporal ^e	0.17	<0.01
Genetic ^c	Temporal ^e	Euclidean ^d	0.06	<0.01
		Ownership ^f	0.05	<0.01

^a Partial Mantel R test statistic using a Pearson correlation coefficient

^b P-value obtained with 9999 Monte Carlo simulations

^c 0: $\geq 98\%$, 1: $< 98\%$ homology

^d 0: ≤ 5 km, 1: > 5 km

^e 0: ≤ 1 month, 1: > 1 month

^f 0: same, 1: different

Figures

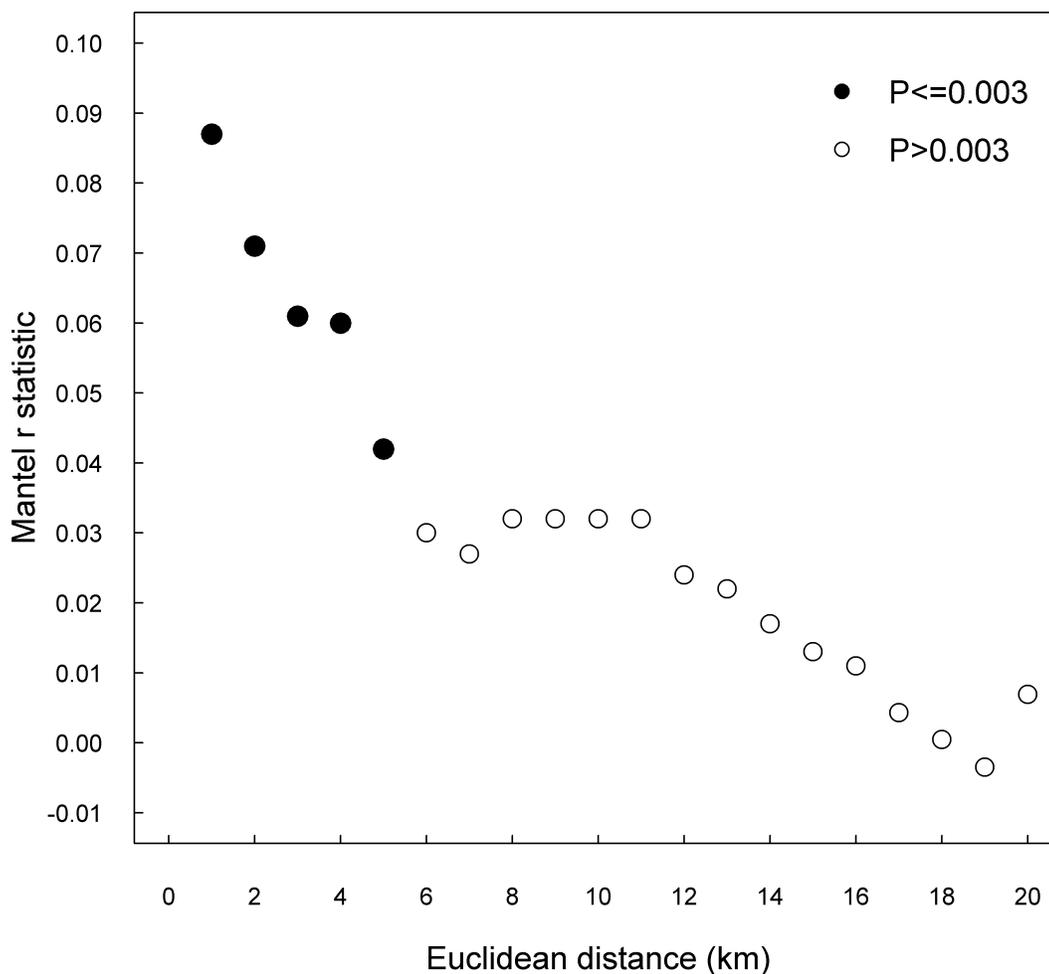


Figure 7. Spatial correlogram showing Mantel r statistic computed on binary matrices of genetic ($\geq 98\%$, $< 98\%$ homology) and Euclidean distances for different thresholds (km). Results were obtained from 7381 different pairwise combinations of 122 ORF5 sequences gathered between February 2005 and June 2007. Dark dots indicated significant correlation ($P \leq 0.003$) after 9999 permutations of matrices.

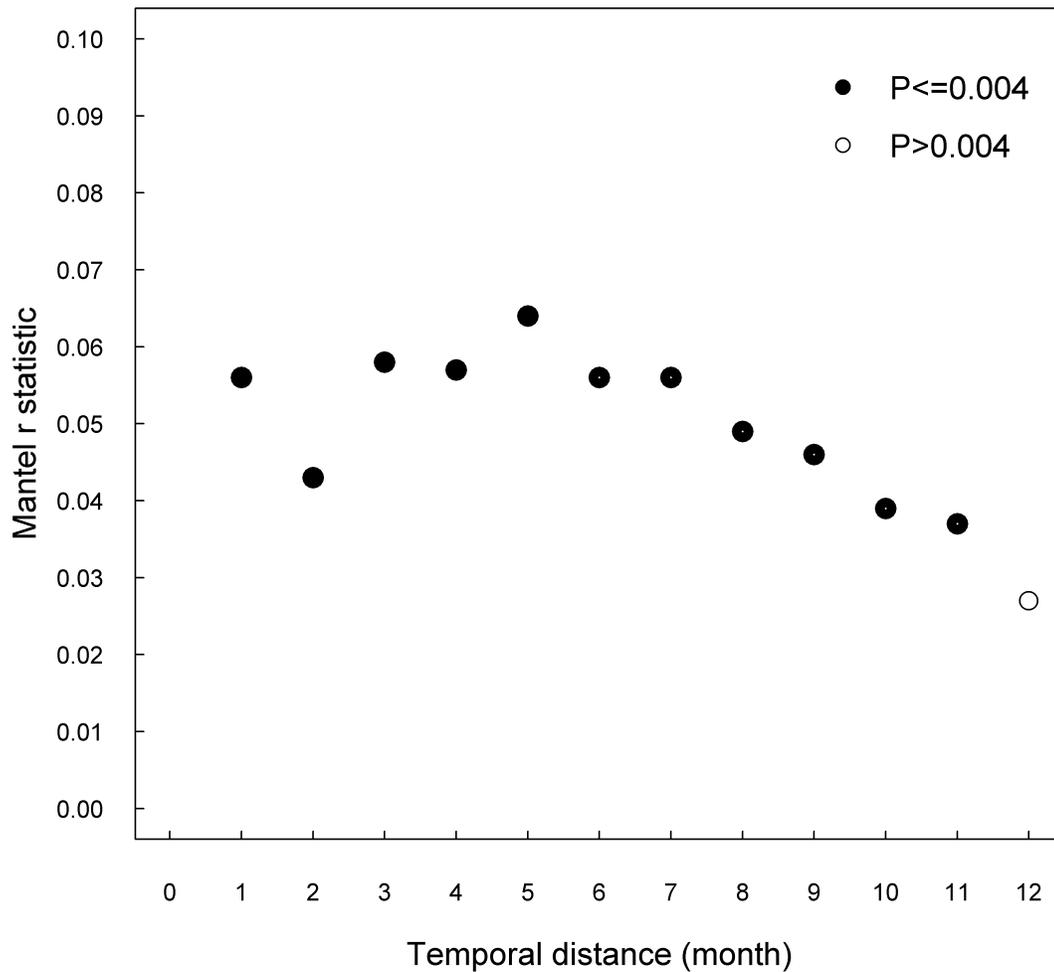


Figure 8. Temporal correlogram showing Mantel r statistic computed on binary matrices of genetic ($\geq 98\%$, $< 98\%$ homology) and temporal distances for different temporal thresholds (month). Results were obtained from 7381 different pairwise combinations of 122 ORF5 sequences gathered between February 2005 and June 2007. Dark dots indicated significant correlation ($P \leq 0.004$) after 9999 permutations of matrices.

Discussion générale

Ce projet de recherche visait à améliorer la connaissance de l'épidémiologie du SRRP au Québec. La première partie de l'étude décrivait d'abord les stratégies d'introduction des animaux de remplacement afin de mettre en évidence des pratiques potentiellement à risque pour l'introduction ou la recirculation du virus SRRP au sein des troupeaux. Par la suite, un tableau a été brossé de certaines caractéristiques de troupeaux, de voisinage et sur les mesures de biosécurité utilisées. La prévalence du SRRP et son association avec ces dernières caractéristiques ont été estimées. Finalement, une étude de corrélation entre les distances génétique, euclidienne et temporelle des souches virales a été réalisée. Cette section comportera donc une discussion des principaux résultats découlant de ces objectifs. Elle abordera également quelques difficultés méthodologiques rencontrées, tout comme les limites de l'étude. Ensuite seront proposées quelques orientations futures de recherche pour augmenter davantage nos connaissances sur l'épidémiologie du SRRP au Québec.

Avant de poursuivre avec la discussion générale, des éclaircissements doivent être apportés afin de comprendre les différents sous-groupes de sites de production évalués au sein des chapitres de la thèse. En effet, l'utilisation de plusieurs régions et types de production a été nécessaire afin de pouvoir répondre aux différents objectifs de la thèse. Initialement, une seule région comprenant 10 municipalités adjacentes de la Montérégie avait été sélectionnée pour l'étude où tous les sites de productions (naisseurs, naisseurs-finisseurs, pouponnière et/ou engraissement) faisaient partie de la population cible. Le recensement volontaire de tous les sites de la région était nécessaire afin de satisfaire l'objectif 4 de la thèse; celui voulant évaluer la corrélation entre les distances génétique, euclidienne et temporelle des souches de SRRP le plus précisément possible. Ceci permettait également de répondre à d'autres objectifs soient d'évaluer les différentes stratégies d'introduction des cochettes de remplacement parmi les élevages naisseurs et naisseurs-finisseurs ainsi que la fréquence des mesures de biosécurité pour tous les sites de production incluant les sites de pouponnière et/ou d'engraissement. Cette approche permettait également d'obtenir la prévalence au sein du groupe de municipalités sélectionnées et d'explorer la relation entre les mesures de biosécurité, certaines caractéristiques de troupeau et environnementales et le statut SRRP des sites de production.

Cette région de 10 municipalités adjacentes a été choisie en raison de sa proximité avec la Faculté de médecine vétérinaire, permettant ainsi de pallier à une logistique de temps et de coût liés aux déplacements. Cette région comportait à la fois des municipalités de haute et de moyenne densité porcine (nombre de fermes/km²). Ceci visait à maximiser l'étendue des distances observées entre les sites. Cependant, suite à l'évaluation terrain, la haute prévalence obtenue combinée aux caractéristiques particulières des troupeaux naisseurs et naisseurs-finisieurs négatifs (par exemple, très faible taille de l'inventaire) rendaient les analyses de facteurs de risque difficiles à interpréter. La forte prévalence obtenue parmi les sites de pouponnière, de pouponnière-engraissement et d'engraissement, la difficulté d'identifier le statut SRRP de la source ainsi qu'une faible application de la biosécurité compliquaient également les analyses pour ce dernier type de production. Par conséquent, il a été convenu d'explorer une deuxième région, de densité modérée, afin de pouvoir évaluer la relation entre certains facteurs de risque potentiels et le statut SRRP des sites de production. En raison de contraintes financières et de temps, seuls les naisseurs et naisseurs-finisieurs ont été inclus dans cette dernière région. L'inclusion d'une deuxième région a également permis de comparer les stratégies d'introduction des cochettes de remplacement ainsi que les mesures de biosécurité entre la région de haute et de densité modérée amenant ainsi une dimension intéressante aux analyses descriptives. À cette fin, un nombre comparable de naisseurs et naisseurs-finisieurs a donc été visé dans les deux régions et pour ce faire, toute la région de l'Estrie a dû être considérée.

Discussion sur les principaux résultats

Les stratégies d'introduction des cochettes de remplacement

Il s'agit de la première étude entreprise afin de décrire plus précisément les différentes stratégies d'introduction des cochettes de remplacement utilisées sur le territoire québécois. Certaines études et enquêtes effectuées rapportent des fréquences ou utilisent les termes de quarantaine ou d'acclimatation sans toutefois présenter de définition précise ou alors semble les considérer comme des synonymes, alors que les deux procédures n'ont absolument pas le même objectif, surtout pour le SRRP. Cette étude a donc dû concevoir ses propres définitions dans le but de pouvoir évaluer concrètement ce qui était fait sur le terrain et pouvoir constater les pratiques potentiellement à risque pour l'introduction ou la recirculation d'une souche de SRRP au sein du troupeau reproducteur. Le besoin de définir adéquatement les différentes

stratégies d'introduction des cochettes témoigne de l'importance de clarifier les concepts de quarantaine et d'acclimatation afin d'en faire une meilleure utilisation sur le terrain. En effet, l'obtention d'une définition claire afin de bien cerner la stratégie d'introduction en vigueur sur le site de production est un préalable essentiel à la compréhension et au respect des principes de base en découlant.

L'introduction d'animaux infectés est un facteur de risque reconnu pour l'introduction du virus au sein d'un site de production, étant à la fois documenté par des études épidémiologiques et phylogénétiques (Le Potier *et al.*, 1997; Mortensen *et al.*, 2002; Larochelle *et al.*, 2003). Au Québec, les besoins annuels en remplacement atteignent 35-45% (Denicourt et Klopfenstein, 2004). Un tiers des producteurs interrogés pratiquaient de l'auto-renouvellement, diminuant ainsi grandement ce risque. De même, la grande majorité des sites achetaient des cochettes de source externe négative au virus SRRP et/ou provenant d'un seul fournisseur. La plupart des producteurs semblent donc conscients de l'importance de cette voie de transmission. Néanmoins, le statut de la source d'animaux n'a pu être confirmé, peu de producteurs ayant un contrat signé avec une compagnie ou une certification du statut des animaux. Cette étude a mis en évidence certaines pratiques potentiellement à risque pour l'introduction de nouvelles souches de SRRP au sein d'un élevage reproducteur telles que l'introduction directe des cochettes dans le troupeau reproducteur ou alors l'absence de période de quarantaine effectuée en bonne et due forme, c'est-à-dire située à l'écart du bâtiment principal et respectant un roulement tout-plein tout-vide avec désinfection entre les groupes. Bien que succinctement évaluée dans le cadre de cette étude, la biosécurité au moment de la livraison des animaux de remplacement pourrait également être grandement améliorée. Les différents éléments mentionnés ci-dessus mettent donc l'accent sur certains points à prioriser afin de diminuer les risques externes.

D'autres pratiques sont potentiellement à risque pour la recirculation d'une souche endémique, pouvant donc alimenter la persistance de l'infection au sein du troupeau. Même si des études expérimentales et de terrain soulignent l'importance de l'acclimatation comme procédure de stabilisation du troupeau reproducteur pour le SRRP (Dee *et al.*, 1995; Batista *et al.*, 2002b; Vashisht *et al.*, 2008), notre enquête a révélé plusieurs lacunes pouvant diminuer son efficacité en conditions de terrain. En effet, plusieurs principes de base relatifs à la période d'exposition ou alors de récupération n'étaient pas respectés, pouvant entraîner l'entrée de cochettes

virémiques ou de cochettes non immunisées et donc susceptibles au sein du troupeau reproducteur. Entre autres, les durées nécessaires à l'exposition et à la récupération dictées respectivement par le type d'exposition pratiquée et la persistance du virus dans les tissus qui peut atteindre 157 jours et même plus (1997c; Wills *et al.*, 2003), rendent ce long processus particulièrement difficile à appliquer en conditions commerciales. En ce sens, l'achat de cochettes plus jeunes présente un avantage considérable afin de respecter la période de récupération (Denicourt et Klopfenstein, 2004), mais il reste mal exploité sur le terrain, soit en raison d'un manque de connaissances générales sur le processus ou de disponibilité d'un emplacement spécifique à cet effet.

Les épreuves diagnostiques effectuées lors de la quarantaine ou durant l'acclimatation sont essentielles afin d'évaluer les processus (Moore, 1992; Nilubol et Thacker, 2002; Batista, 2005; Pitkin *et al.*, 2009d). Or, un sérieux manque concernant ces procédures a été observé, plus des trois quarts des sites n'effectuant aucune épreuve. Ainsi, la plupart des stratégies, incluant donc l'acclimatation, seraient entièrement effectuées à l'aveugle, fait pouvant contribuer à l'échec des différentes stratégies d'introduction tentées sur le terrain (Denicourt et Klopfenstein, 2004).

La diversité des méthodes d'acclimatation utilisées, l'exposition peu ou pas contrôlée ainsi qu'une période de récupération et des procédures de diagnostic insuffisantes pourraient donc contribuer à la circulation de la souche endémique au sein des troupeaux pratiquant l'acclimatation. Par ailleurs, les conséquences sur le voisinage de l'exposition volontaire à une souche de SRRP vaccinale ou de terrain dans un troupeau ne sont pas documentées. C'est donc à la fois en raison des nombreuses lacunes observées et de l'influence potentielle sur le voisinage qu'une description de la distribution géographique des sites SRRP négatifs et des sites positifs pratiquant l'exposition volontaire a été entreprise. Dans la région de densité modérée, l'étude a pu cibler des zones négatives à protéger ainsi que des zones où les principes d'acclimatation devraient être révisés afin de limiter l'influence potentielle de ces sites sur le voisinage. Inversement, le travail demeure considérable et difficile à organiser au sein de la région à haute densité; les sites pratiquant l'exposition volontaire tout comme le peu de sites négatifs étant aléatoirement distribués sur le territoire investigué. De ce fait, les vétérinaires et producteurs doivent travailler en collaboration afin de clarifier les concepts à la base de la quarantaine et de l'acclimatation, d'établir les différents principes à respecter, de les évaluer régulièrement et d'évaluer leur effet afin de pouvoir en tirer tous les bénéfices désirés, soit de

limiter l'introduction de nouvelles souches ou la recirculation de souche endémique au sein du troupeau reproducteur et donc hypothétiquement au sein d'une région.

Les mesures de biosécurité

Il était justifié de dresser un portrait global de la biosécurité actuelle pouvant avoir un lien avec le contrôle du virus SRRP. En effet, aucune autre étude documentant la fréquence de mesures de biosécurité externe ainsi que la distribution géographique de la biosécurité au sein de sites de production québécois n'était disponible. Depuis l'initiation de notre étude, un rapport descriptif a témoigné de la situation de 36 fermes de la Beauce, région de haute densité porcine, en 2010 (Urizar et Klopfenstein, 2010). Cependant, cette dernière enquête n'utilisait qu'un nombre limité de fermes sélectionnées de façon non aléatoire et employait un système de score de risque pondéré pour le SRRP «Programme d'évaluation des risques de maladies en production animale» (PADRAP) (Holtkamp *et al.*, 2010b), ce qui ne permet pas d'obtenir des fréquences d'application de mesures spécifiques de biosécurité.

Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet de recherche sont quelque peu surprenants, considérant les efforts de promotion de la biosécurité réalisés par le passé au Québec en regard des maladies infectieuses porcines (Moore, 1992; Boutin, 2001; Broes, 2002). Bien que l'étude ait témoigné d'une bonne application de plusieurs mesures de biosécurité, des améliorations sont encore nécessaires préalablement à toutes initiatives de contrôle du virus SRRP. En effet, des bonnes pratiques telles que le contrôle des rongeurs par un exterminateur professionnel, l'installation de grilles de protection contre les oiseaux dans les prises d'air ainsi que l'interdiction d'accès au bâtiment principal par les animaux domestiques étaient présentes sur la majorité des sites de production. De même, l'accès au bâtiment principal était généralement interdit au livreur de moulée et de semence et pour plus de 90% des sites, aucun lisier de source externe n'était épandu au pourtour du site de production.

Par contre, des améliorations simples et peu coûteuses devraient être apportées rapidement dans plusieurs élevages afin de limiter l'accès des visiteurs non autorisés au bâtiment telles que par la mise en place de panneaux «défense d'entrer», de verrous aux portes principales ainsi que de sonnette fonctionnelle; mesures qui n'étaient présentes que sur 25 à 38% des sites. De plus, les pratiques reliées au protocole d'entrée des visiteurs, mais également des employés, telles que le lavage de mains, le changement de bottes et salopettes, la présence d'une séparation claire et

physique entre l'aire contaminée et propre ou d'une douche étaient nettement déficientes, cette dernière mesure n'ayant été rapportée que sur 5% des sites. Bien qu'investiguées en regard du SRRP, ces dernières mesures seraient aussi grandement utiles pour prévenir l'introduction de pathogènes entériques dont *E. coli* (Amass *et al.*, 2003a), le virus de la gastro-entérite transmissible (Alvarez *et al.*, 2001) et d'autres agents d'importance en santé publique tels que *Salmonella* (Baptista *et al.*, 2010) ou *Campylobacter* (Hald *et al.*, 2000). Les lacunes en regard du protocole d'hygiène pourraient également avoir un impact considérable suite à l'introduction de maladies exotiques. En effet, l'absence du port de bottes de la ferme était un facteur associé à l'introduction de la peste porcine classique sur les fermes lors de l'épidémie survenue en 1997-1998 aux Pays-Bas (Elbers *et al.*, 2001). Dans un même ordre d'idée, la douche ou le lavage de mains couplés à un changement de bottes et de salopettes sont des mesures efficaces contre la transmission mécanique du virus de la fièvre aphteuse à des porcs susceptibles (Amass *et al.*, 2003b; Amass *et al.*, 2004).

Parallèlement aux manquements s'adressant au personnel et aux visiteurs, seulement 3% des sites disposaient de barrières fermées à l'entrée, d'un périmètre clôturé, ou alors d'un stationnement situé à >30 m du bâtiment principal, ce résultat est nettement inférieur à ce qui est observé dans certains pays tels que l'Espagne (Casal *et al.*, 2007). Considérant la fréquence de contact importante s'opérant via l'entrée de véhicules de toute sorte (Bates *et al.*, 2001; Ribbens *et al.*, 2009) et leur potentiel de transmission mécanique du virus via leurs roues contaminées (Dee *et al.*, 2002), des mesures préventives devraient être mises en place directement à la ferme. La proximité avec laquelle certains véhicules pouvaient s'approcher des bâtiments, par exemple moins de 30 m pour l'équarisseur sur la moitié des sites investigués, est aussi inquiétante. Cependant, le rehaussement de la biosécurité visant la gestion du transport des animaux vivants, des carcasses ou des différents intrants ou extrants de la ferme, exigerait l'entière participation de plusieurs intervenants de l'industrie porcine. Bien que très succinctement évalué dans le cadre de cette étude, le lavage des camions de transport s'est révélé déficient, accentuant donc l'urgence de rendre disponible des stations de lavage ainsi que d'assurer un suivi étroit du processus de lavage, de désinfection et de séchage des camions de transport commerciaux, un problème également souligné par différents intervenants de l'industrie (Urizar et Klopfenstein, 2010). La rareté de ces installations, combinée à la rigueur de l'hiver québécois rend ces dernières opérations particulièrement difficiles (Broes, 2002). Sur

plusieurs points donc, la biosécurité ne devrait pas seulement être considérée comme une action individuelle, mais bien collective.

La présente étude a permis d'obtenir des informations essentielles en regard du type de sites appliquant ou non les pratiques en vue d'orienter nos interventions sur le terrain. Ainsi, un rehaussement considérable des mesures de biosécurité spécifiques sera nécessaire pour les sites naisseurs et naisseurs-finisieurs localisés en Montérégie (haute densité) comparativement à ceux de l'Estrie (densité modérée). Une conclusion semblable peut être dégagée vis-à-vis les sites de croissance-finition versus les naisseurs et naisseurs-finisieurs situés en Montérégie (haute densité). Alors que la différence détectée entre les deux types de production au sein de la même région était attendue, celle observée entre les régions était plutôt surprenante venant donc accentuer les problèmes liés à la gestion de la maladie au sein de la région de haute densité porcine où la prévalence du SRRP est particulièrement élevée. Ce portrait de la biosécurité a donc favorisé l'organisation des différentes interventions de rehaussement à effectuer à court terme. Il a également permis de définir la fréquence actuelle des mesures de biosécurité spécifiques qui, ultérieurement, pourrait être utilisée comme indicateur de performance des actions entreprises sur le terrain.

Les patrons de biosécurité obtenus ont permis, pour chacun des types de production, d'évaluer la présence d'associations entre le niveau de biosécurité (inférieur, supérieur) et certaines caractéristiques de troupeau et de voisinage. Parmi les sites naisseurs et naisseurs-finisieurs, un inventaire de grande taille, le type de production «naisseur» ainsi que l'appartenance à un système intégré de production étaient tous associés aux sites figurant dans le patron de biosécurité supérieure. Selon les résultats préliminaires obtenus sur 33 troupeaux belges, une corrélation positive a été observée entre le score de biosécurité externe et interne et le nombre de truies (Laanen *et al.*, 2010), alors que d'autres rapportent également une fréquence plus élevée de certaines mesures spécifiques (Boklund *et al.*, 2003). Des études effectuées sur des élevages intégrés chiliens et espagnols témoignent également d'une fréquence de biosécurité plus élevée (Pinto et Urcelay, 2003; Casal *et al.*, 2007). De même, les sites figurant dans le patron de biosécurité supérieur étaient également situés à plus grande distance du site de production voisin et de la route publique, suggérant que la localisation de la ferme pouvait faire partie intégrante du protocole de biosécurité. Parmi les sites de croissance-finition, un

inventaire élevé et le type de production «pouponnière» étaient également associés avec le patron de biosécurité supérieur.

Peu d'ouvrages ont documenté la distribution géographique du niveau global de biosécurité dans une perspective de contrôle régional. Les résultats laissent prévoir des difficultés supplémentaires particulièrement dans la région de forte densité porcine où les sites ayant différents patrons de biosécurité étaient aléatoirement distribués sur le territoire rendant l'approche sectorielle difficile. En effet, la proximité évidente de sites ayant différents types de production et/ou patrons de biosécurité contribue au casse-tête d'une gestion des priorités de rehaussement basées sur la position géographique des sites, en vue d'une compartimentalisation du territoire (World Organisation for Animal Health, 2010). Évidemment, ce dernier principe ne serait envisageable qu'en considérant le réseau routier et la structure de contacts directs et indirects existants entre les fermes.

Prévalence et facteurs de risque pour l'infection par le virus SRRP

Bien que visant seulement deux régions, il s'agit de la première étude de prévalence québécoise. L'obtention d'un niveau de base de prévalence était nécessaire afin d'évaluer les différentes stratégies de contrôle envisageables et également afin de constater l'impact des actions de prévention et contrôle qui seront entreprises sur le terrain. Les résultats obtenus témoignent d'une prévalence très élevée pour toute région ou type de production confondus s'apparentant à celle d'autres pays (Lu *et al.*, 1999; Batista *et al.*, 2010; Lopez-Soria *et al.*, 2010). Une prévalence supérieure a été observée parmi les sites naisseurs et naisseurs-finisieurs des municipalités ciblées dans la région de haute densité (94%), comparativement à ceux localisés dans la région de densité modérée (74%). Somme toute, la forte prévalence observée dans les deux régions couplée à une densité animale importante rendra plus difficile la gestion de l'infection sur l'ensemble des régions investiguées. En effet, le taux de réussite des programmes de contrôle est supérieur lorsque la prévalence est faible ou lorsqu'effectué tout juste suivant l'introduction du virus au pays (Le Potier *et al.*, 1997; Carlsson *et al.*, 2009). Au sein des deux régions, une approche de contrôle visant des zones circonscrites de moindre taille serait donc à privilégier.

Certaines études observationnelles ont évalué les différents facteurs de risque pour l'introduction du virus SRRP au sein des sites de production (Mousing *et al.*, 1997; Mortensen

et al., 2002), mais peu ont examiné de façon approfondie les mesures de biosécurité spécifiques (Evans *et al.*, 2008; Holtkamp *et al.*, 2010a). Or, il était essentiel de considérer ces dernières pour développer éventuellement une meilleure approche préventive contre le SRRP. Les résultats obtenus pour la région à densité modérée (voir section limites) démontrent une relation positive entre le statut SRRP positif et l'inventaire porcin du site de production (>300 HPU), la proximité avec le site porcin avoisinant (≤ 2,5 km), ainsi que l'absence de deux mesures de biosécurité spécifiques soit la douche et le libre accès au site par le camion de récupération.

La taille de troupeau et la distance du voisin sont deux facteurs de risque corroborés par d'autres études (Mortensen *et al.*, 2002; Evans *et al.*, 2008; Holtkamp *et al.*, 2010a), mais difficiles à contrôler dans le cadre d'une approche préventive contre le SRRP. Par contre, il est important de comprendre de quelle façon ils sont reliés à une augmentation du risque d'infection. Ainsi, l'effet observé avec la taille de troupeau pourrait être relié à la fréquence élevée des contacts directs, soit d'introduction de porcs (Bates *et al.*, 2001; Gardner *et al.*, 2002; Boklund *et al.*, 2004). Également, on suspecte un plus grand nombre de contacts indirects générés par l'entrée de visiteurs ou de véhicules reliés à l'industrie (Bates *et al.*, 2001; Boklund *et al.*, 2003; Ribbens *et al.*, 2009). Outre ces différents éléments reliés à l'introduction du virus sur le site, d'autres études ont observé une persistance accrue de l'infection au sein des élevages de grande taille (Nodelijk *et al.*, 2000; Evans *et al.*, 2010). Dans un même ordre d'idées, la relation positive obtenue entre le statut SRRP positif et la proximité avec le site porcin avoisinant pourrait être le reflet de la propagation régionale qui inclut plusieurs voies de transmission comme les aérosols, les insectes, et potentiellement d'autres vecteurs mécaniques tels que les oiseaux, rongeurs et autres mammifères sauvages et domestiques (Lager *et al.*, 2002; Batista *et al.*, 2003b; Larochelle *et al.*, 2003). De plus, le partage d'équipement, d'outils ou alors le mouvement de véhicules entre fermes voisines auraient également pu être favorisés et jouer un rôle dans la transmission (Ribbens *et al.*, 2009; Vieira *et al.*, 2009).

L'étude a mis en évidence deux mesures de biosécurité associées au statut SRRP qui seraient importantes à considérer dans tout plan d'intervention visant le contrôle du virus SRRP. À ce jour, une seule étude observationnelle mentionne un effet significatif des procédures sanitaires pour les employés et visiteurs entrant sur un site sur le statut SRRP, sans toutefois donner de détails sur la variable testée ni sur la force d'association (Holtkamp *et al.*, 2010a). Dans le cadre

de notre étude, une douche prise obligatoirement à chaque entrée par quiconque entrant dans le bâtiment avait un effet protecteur. Il est probable que l'effet provienne à la fois du lavage de mains ainsi que du changement de bottes et salopettes effectués tout en favorisant un respect des zones propres et contaminées. Les systèmes de douche ou d'entrée danoise ont donné des résultats concluants sur la transmission mécanique du virus SRRP lors d'évaluation expérimentale (Otake *et al.*, 2002c). Néanmoins, l'observance de ces protocoles d'entrée peut dépendre de la facilité d'utilisation et de l'effort nécessaire à la mise en place de la mesure (Wurtz *et al.*, 1994). Dans les faits, une entrée danoise séparant les zones propres et contaminées et facilitant donc le changement de bottes et de salopettes et le lavage de mains à l'entrée et à la sortie de la ferme telle que décrite par Moore (1992), serait plus facilement envisageable sur le terrain pour tous types de production confondus.

L'étude a également révélé une association positive entre le libre accès au site par le camion de récupération et le statut SRRP positif des sites. L'usage de la récupération est coûteuse pour les élevages porcins, les coûts étant estimés à environ 7 400\$ pour un site naisseur-finisser comptant 600 truies (Leblanc, 2004). De plus, l'usage de la récupération ou l'accès au site par le camion d'équarrissage exposerait donc à d'autres menaces sanitaires (Rose et Madec, 2002; McQuiston *et al.*, 2005). La gestion des carcasses directement à la ferme via le compostage, l'incinération ou l'enfouissement serait également une avenue possible, interdisant l'accès au site au camion de récupération (Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 2011b). Par contre, les différents systèmes utilisés pour la gestion sur le site mériteraient une évaluation particulière concernant l'accès aux carcasses par les animaux sauvages ou domestiques et le respect des différentes normes environnementales, des problématiques remarquées lors de notre enquête terrain. L'implantation d'un site de récupération des carcasses hors site avec désinfection du matériel utilisé pour véhiculer les carcasses pourraient diminuer le risque. À tout le moins, un bac situé aux abords de la route publique ainsi qu'une barrière fermée en tout temps devraient être envisagés. Mentionnons également qu'au sein de la région de densité modérée étudiée, aucune compagnie ne détenait de permis pour l'équarrissage ni la récupération des carcasses (Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 2011a), les sites participants requérant tous les services d'une compagnie située à l'extérieur de la région évaluée accentuant davantage le potentiel de transmission des maladies entre les sites et même entre les régions. En situation d'urgence sanitaire par exemple suivant l'introduction de la fièvre aphteuse, cette organisation

serait fortement à risque de favoriser la dissémination de la maladie sur le territoire et pourrait même représenter une limite considérable à notre rapidité d'action à assurer une bonne gestion des carcasses contaminées, point critique fréquemment rapporté (de Klerk, 2002).

À ce jour, la relation entre la biosécurité et le statut SRRP n'a jamais été examinée précisément en comparant l'utilisation de mesures de biosécurité spécifiques à celle d'un score global de biosécurité. Les analyses multivariées concernant la biosécurité ou la création d'index de biosécurité ont gagné en popularité et sont présentées au sein de plusieurs articles (Barcelo et Marco, 1998; Boklund *et al.*, 2004; Ribbens *et al.*, 2008; Costard *et al.*, 2009; Van Steenwinkel *et al.*, 2011). Les index de biosécurité sont parfois même utilisés à titre d'indicateur du niveau de risque associé à la transmission d'une maladie spécifique ou alors envers différentes maladies (Baptista *et al.*, 2010; Holtkamp *et al.*, 2010b; Laanen *et al.*, 2010). La présente étude révèle l'importance d'une approche prudente face à l'utilisation d'un système d'index dans les études épidémiologiques voulant évaluer la relation entre la biosécurité et le statut SRRP des sites. Ainsi, l'utilisation d'un index ne remplace pas l'évaluation de l'effet associé aux mesures de biosécurité spécifiques. Une emphase devrait donc être placée sur l'importance de construire les index basés sur des données épidémiologiques obtenues pour les facteurs de risque d'une maladie spécifique et non l'inverse. Plusieurs index, dont le système PADRAP, sont réalisés utilisant un système de pondération pour les différentes voies de transmission basée sur la connaissance empirique de plusieurs experts (Holtkamp *et al.*, 2010b). Bien que logique et utile d'un point de vue descriptif, ce type d'index n'en demeure pas moins subjectif et issu des perceptions actuelles a priori et ne devrait donc pas être utilisé au sein d'études évaluant la relation entre la biosécurité et une maladie spécifique. Au même titre, les différents patrons de biosécurité dégagés au sein du chapitre 2 de la présente thèse sont justifiés d'un point de vue descriptif pour cibler les différentes interventions de rehaussement, la biosécurité étant logiquement bénéfique en général. Par contre, ils ne traduisaient pas exactement le risque associé à la présence sur le territoire d'un site positif au virus SRRP, tout comme le risque associé à d'autres maladies pour lesquelles la biosécurité serait également une arme de choix.

Corrélations entre les distances génétique, euclidienne et temporelle des souches de SRRP

L'exploitation des données de séquençage viral a d'abord révélé une diversité génétique impressionnante (11.6%) entre les différentes paires de séquences considérant le territoire limité, soit environ 20 km de rayon. Cette hétérogénéité est supérieure à celle observée d'autres

études d'épidémiologie moléculaire effectuées en Amérique du Nord (Goldberg *et al.*, 2000a; Mondaca-Fernandez *et al.*, 2006) et se rapproche du 12.5% de diversité obtenue pour un nombre considérable de séquences provenant de plusieurs continents (Shi *et al.*, 2010). Outre la moyenne des distances génétiques observée parmi toutes les paires de séquences, la diversité peut être quantifiée autrement. En effet, plusieurs études représentent la diversité au moyen de groupements formés à partir d'un arbre phylogénétique (Shi *et al.*, 2010). Ainsi, le nombre et la dispersion spatiale des différents groupements génétiques présents sur un territoire donné seraient importants à considérer afin de regrouper les sites en vue de faciliter le contrôle régional de l'infection. Actuellement, aucune littérature mentionnant l'impact de la diversité sur la capacité à contrôler l'infection n'a été répertoriée, quelle que soit son unité de mesure.

Également, plus de 50% des séquences virales recueillies sur le terrain ne démontraient aucune homologie $\geq 98\%$ avec d'autres souches. Ainsi, au sein de la région considérée, les troupeaux étaient potentiellement exposés à plusieurs souches hétérologues circulant au niveau du territoire. Or, des études expérimentales ont démontré que seule une protection croisée partielle peut être escomptée lors d'un défi hétérologue, les animaux développant une virémie et pouvant excréter le virus (Christopher-Hennings *et al.*, 1997; Lager *et al.*, 1999). Bien que sur le terrain, des séquences ayant plus de 98% d'homologie soient souvent considérées homologues, le seuil demeure quelque peu subjectif. Même au sein des différentes études expérimentales voulant évaluer l'impact des défis homologues et hétérologues sur le système immunitaire, les seuils utilisés demeurent très variables. Certains utilisant même, pour effectuer un défi homologue, des souches provenant de différents génotypes donc des souches hautement hétérologues (Lager *et al.*, 1999). Le seuil d'homologie $\geq 98\%$ utilisé au sein de ce projet est supporté par une étude d'épidémiologie moléculaire rapportant que lorsque le lien rapporté entre deux fermes était l'introduction d'animaux infectés (source commune d'animaux), une homologie $\geq 98\%$ était observée (Larochelle *et al.*, 2003). Il est par contre très difficile de prédire la similitude de virulence ou de leur aptitude à occasionner des signes cliniques similaires au sein des troupeaux de par le pourcentage d'homologie observé entre deux souches. Alors que la virulence d'une souche peut dépendre de mutations existant à une échelle beaucoup plus fine que celle utilisée pour les analyses de la présente étude, l'association entre la similitude des signes cliniques et la similitude des souches virales retrouvées parmi certains troupeaux demeure peu étudiée (Goldberg *et al.*, 2000b; Rosendal *et al.*, 2010). Également, le comportement clinique de la même souche au sein de deux élevages différents

peut varier en fonction de plusieurs facteurs tels que l'âge des animaux, le statut immunitaire du troupeau, la présence d'infections concomitantes et autres caractéristiques telles que le roulement de production, taille de troupeau etc (Halbur *et al.*, 1995; Halbur et Bush, 1997; Pejsak *et al.*, 1997; Yoon *et al.*, 1999; Goldberg *et al.*, 2000b; Hurd *et al.*, 2001; Zimmerman et Yoon, 2003; Opriessnig *et al.*, 2005).

Malgré la grande diversité observée, l'étude de corrélation effectuée entre les différentes matrices de distance a permis de visualiser certains liens communs entre les sites ayant des souches homologues (98%), suggérant ainsi certaines voies de transmission. Une grande proportion de souches homologues était observée entre souches provenant de sites appartenant au même producteur ou alors au même réseau d'intégration. Ceci suggère des sources communes d'infection soit par les animaux ou les mêmes employés, services techniques ou véhicules qui agiraient comme vecteur mécanique de l'agent (Le Potier *et al.*, 1997; Dee *et al.*, 2002; Mortensen *et al.*, 2002; Otake *et al.*, 2002c; Pitkin *et al.*, 2009a). Une corrélation positive a également été observée entre les distances génétique et euclidienne des séquences virales, ce qui suggère une propagation régionale dans le processus de transmission entre les sites de production. Encore une fois, ce concept pouvant inclure les aérosols, les insectes, les animaux sauvages ou domestiques et plusieurs autres objets inanimés ou véhicules (Lager *et al.*, 2002; Larochelle *et al.*, 2003) devrait absolument être considéré dans une perspective à long terme de contrôle régional. La corrélation positive a été observée jusqu'à 5 km, mais diminuait à mesure que la distance augmentait. Ces dernières informations sont non seulement cruciales afin de suggérer différentes voies de transmission et de mieux les contrôler, mais également de former des sous-groupes de producteurs pour faciliter le contrôle régional de l'infection.

Le dernier chapitre de la thèse est également intéressant d'un point de vue méthodologique. Le test de Mantel a d'abord permis de gérer la non-indépendance des données reliées à leur nature pairée, c'est-à-dire le fait de calculer des distances sur des paires de séquences. De plus, alors que les autres études de corrélation ont utilisé des matrices de distance continues afin de tester leurs différentes hypothèses (Goldberg *et al.*, 2000a; Mondaca-Fernandez *et al.*, 2006), le présent projet a également considéré les matrices de distance binaire. Alors qu'aucune corrélation entre les distances génétique et euclidienne était notée en utilisant des matrices continues, l'utilisation de matrices binaires, combinée à l'investigation de différents seuils de

distance a permis de visualiser certaines limites associées à l'utilisation des matrices continues c'est-à-dire celle reliée à la relation linéaire recherchée par le test de Mantel (Legendre et Legendre, 1998).

Actuellement, peu d'écrits témoignent du succès des initiatives de contrôle régional (Corzo *et al.*, 2010). La présente étude a décrit plusieurs éléments pouvant avoir une influence majeure sur le succès des différentes initiatives de contrôle au sein de la région étudiée. Outre la densité régionale ainsi que la proximité des sites porcins avoisinants et du réseau routier, les tentatives pourraient être laborieuses en raison du nombre élevé de producteurs indépendants et d'intégrateurs présents dans la région devant tous travailler en collaboration. De plus, la prévalence élevée de troupeaux infectés combinée à la grande diversité des souches recueillies dans la région est un défi de taille à envisager.

Limites de l'étude

Devis d'étude

Cette étude exploratoire transversale visait non seulement à décrire les différentes caractéristiques de troupeau, de voisinage et les mesures de biosécurité, mais également à faire des inférences sur la relation entre ces variables et le statut sanitaire des sites de production en regard du virus SRRP. L'étude observationnelle était justifiée par le fait que l'exposition était difficilement contrôlable et qu'il fallait vérifier plusieurs hypothèses dans des conditions représentatives du terrain. Les principales limites inhérentes à cette étude découlent principalement de l'utilisation de la prévalence afin de définir le statut des troupeaux en regard du SRRP. Il est donc impossible de dissocier les facteurs de risque alimentant la persistance de l'infection au sein du troupeau de ceux responsables de l'introduction de l'infection. Dans la présente étude, la majorité des facteurs investigués ciblaient des pratiques pouvant mener à l'introduction du virus sur les fermes porcines. Les associations identifiées, outre celle avec la taille de troupeau, font davantage référence à des facteurs reliés à l'introduction de l'infection. De plus, parce qu'à la fois l'exposition aux facteurs de risque potentiels et le statut sanitaire du troupeau sont mesurés en même temps, ainsi les associations identifiées ne supportent pas nécessairement la causalité entre les facteurs identifiés et l'introduction du virus. Pour les facteurs permanents tels que la taille de troupeau ou alors la localisation de la ferme, il est plus facile de dire que l'exposition au facteur de risque s'est produite avant l'infection du troupeau.

Par contre, pour ce qui est de l'absence de douche et de l'accès au site par le récupérateur, la temporalité des événements est plus difficile à établir. Les producteurs auraient pu donner un accès plus facile au site lors d'une crise de SRRP où la mortalité est augmentée, ayant un nombre supérieur de carcasses à gérer. Également, des sites négatifs depuis longtemps peuvent venir tout juste d'implanter la douche sans que celle-ci soit responsable des effets bénéfiques identifiés.

Une étude longitudinale de type cohorte aurait augmenté la validité des inférences pouvant être faites au sujet de l'introduction. Néanmoins, ce type d'étude était impossible à réaliser dans les délais prescrits étant donné l'absence de connaissance sur la prévalence de l'infection et donc de la localisation des troupeaux négatifs. Cette étude était donc exploratoire et a servi de préambule à des études plus spécifiques pouvant être effectuées, tel que le suivi prospectif des troupeaux négatifs identifiés dans le cadre de l'étude transversale. Le devis utilisé dans le cadre de ce projet a néanmoins permis de rencontrer d'autres objectifs tels qu'obtenir une prévalence de troupeaux infectés ainsi qu'une description détaillée des stratégies d'introduction des animaux de remplacement, des mesures de biosécurité et des souches virales en circulation au sein des fermes affectées.

Sélection des sites et des régions

Le choix des régions de haute et de densité modérée a été effectué en vue de pallier à des contraintes financières et de temps. Par conséquent, la validité externe à extrapoler les résultats obtenus aux autres régions ayant des densités similaires ne peut donc pas être assurée. Le projet visait d'abord à maximiser la validité interne afin d'obtenir une meilleure description des différentes variables d'exposition et évaluation des associations entre ces dernières et le statut sanitaire de sites. Au sein de la région à haute densité, tous les sites ont été visés afin d'obtenir la précision maximale pour étudier la diversité génétique et les différentes corrélations entre les séquences virales. Par contre, pour des raisons de coûts, seuls les naisseurs et naisseurs-finisseurs ont été recensés dans la région de densité modérée. L'intention de recensement combiné à un bon pourcentage de participation, soit plus de 75% pour les deux régions, ont donc maximisé la validité interne de l'étude.

La liste de la Fédération des producteurs de porcs du Québec (FPPQ) ne répertorie que les producteurs ayant plus de 5 000\$ de revenu provenant de la production porcine uniquement ou jumelé à un autre type de production agricole. Ainsi, les fermes de très petite taille qui

peuvent avoir un niveau de biosécurité inférieure n'ont pas été incluses dans l'étude (Costard *et al.*, 2009). Cela n'invalide cependant pas la conclusion générale concernant les lacunes de biosécurité observées. L'étude a inclus majoritairement des troupeaux de type commercial. Des résultats descriptifs différents auraient alors pu être observés suite à l'inclusion de troupeaux reproducteurs, tels qu'au Danemark au sein des troupeaux assainis (Boklund *et al.*, 2003). Outre ceux absents de la liste de la FPPQ, d'autres producteurs n'ont pu être rejoints et n'ont donc pas été inclus dans la population à l'étude. Aucune raison n'a été identifiée démontrant que cet élément pouvaient biaiser les résultats descriptifs ainsi que les associations observées.

Questionnaire

La collecte des données relatives aux caractéristiques des fermes et des mesures de biosécurité a été effectuée au moyen d'un questionnaire développé à cet effet. Celui-ci a été administré par un seul interviewer, ce qui a favorisé la standardisation de son administration. De plus, un effort considérable a été fait afin de limiter le nombre de données manquantes en rappelant systématiquement les producteurs pour lesquels des données manquantes figuraient au questionnaire. Cette dernière stratégie a d'ailleurs permis de limiter la quantité de données manquantes, parfois observées en quantité importante dans d'autres études sur un sujet similaire (Van Steenwinkel *et al.*, 2011). En priorité, les questionnaires étaient administrés par des entrevues en personne. Lorsque ce type d'entrevue était impossible à effectuer, principalement en raison d'un problème de disponibilité du producteur, des entrevues téléphoniques étaient alors réalisées plutôt que d'obtenir un refus de participation. Au cours des entrevues téléphoniques, il est possible que les producteurs aient eu tendance à surestimer leur application des mesures de biosécurité comparativement à une entrevue réalisée sur le site. Toutefois, cette possibilité semble peu probable étant donné que tous les producteurs savaient que des échantillons devaient être pris sur le site de production afin d'identifier leur statut sanitaire, ce qui aurait dû les dissuader d'adopter ce comportement. La proportion de sites où le questionnaire a été administré par téléphone est très faible (8%) et très semblable entre les différentes régions, types de production et statuts sanitaires.

Le questionnaire a été pré testé sur des experts et producteurs avant d'être utilisé sur la population à l'étude, l'accent ayant été porté sur la compréhension des questions. Tous les questionnaires ont été administrés avant de confirmer le statut sanitaire actuel en regard du SRRP de façon à réduire le plus possible le potentiel de biais d'information. Néanmoins, le problème principal pouvant générer un biais d'information est celui où les producteurs

n'auraient pas rapporté ce qui était réellement fait sur la ferme, mais plutôt ce à quoi on s'attendait. En vue de se rapprocher de ce qui était fait, le questionnaire s'adressait à la personne travaillant sur le site de production à tous les jours. De plus, pour obtenir un maximum de réponses véridiques, la confidentialité des informations obtenue a été assurée. Certaines mesures telles que celles se rapportant à l'aménagement du site et la distance avec la route publique pouvaient facilement être observées lors de l'entrée sur le site. Par contre, celles faisant plutôt référence à un certain comportement des gens entrant dans le bâtiment l'étaient plus difficilement. Néanmoins, il a été possible d'observer une bonne concordance entre les réponses fournies concernant le protocole d'entrée et les mesures appliquées lors de certaines visites effectuées par l'interviewer en vue de déterminer le statut sanitaire de l'élevage (prises de sang) ou lorsque le questionnaire était administré directement sur le site de production. Par contre, il était très difficile d'évaluer l'observance des nombreuses pratiques évaluées pour quiconque entrant sur le site, tout comme effectuer une validation systématique de chaque mesure de biosécurité. Ceci n'était pas un des objectifs de la présente thèse. Des mesures telles que la venue du camion de récupération ou alors les mesures de biosécurité relatives au transport des porcs, de la semence, de la moulée étaient également difficiles à valider, ne se produisant que très rarement lors de la visite du site. Globalement, l'incapacité à évaluer l'observance aurait pu avoir artificiellement haussé la fréquence des mesures de biosécurité observées, mais n'aurait pas invalidé les conclusions générales sur le niveau de biosécurité. L'analyse de classification des sites en différents patrons de biosécurité présentée dans le chapitre 2 de la thèse aurait également pu être influencée. En effet, le bon patron de biosécurité présentait une fréquence égale ou plus élevée pour les différentes mesures de biosécurité, mais ces dernières n'étaient pas nécessairement appliquées. Par conséquent, les problèmes liés à l'observance auraient davantage été localisés au niveau du bon patron de biosécurité, contenant ainsi des sites qui auraient été classifiés au sein du moins bon patron de biosécurité. Ceci aurait d'ailleurs pu expliquer en partie l'absence d'association entre le score de biosécurité et le statut sanitaire (Chapitre 3).

Une tentative de validation supplémentaire a été faite en ce qui concerne la distance avec le site porcin le plus proche. Des demandes ont été effectuées au Ministère de l'Agriculture, Pêcheries et Alimentation du Québec (MAPAQ) en vue d'obtenir les coordonnées géographiques du centroïde des lots de production porcine, étant la donnée la plus précise disponible concernant la position des fermes. Cette base de données aurait également permis de prendre en

considération la densité locale (Nombre de troupeaux/km²) et taille des troupeaux environnants au sein des analyses. Cependant, pour des délais de temps nécessaires à la réception et au traitement des données, ces dernières informations n'ont pas pu être utilisées.

Identification du statut SRRP

Le statut sanitaire du site de production en regard du virus SRRP a été déterminé de différentes façons afin de pouvoir satisfaire aux divers objectifs de la thèse. Le statut sanitaire positif/négatif était d'abord nécessaire pour améliorer la description des stratégies d'introduction des cochettes de remplacement (Chapitre 1) et évaluer la relation avec différentes mesures de biosécurité et caractéristiques d'élevage et de voisinage (Chapitre 3). Par contre, l'étude de corrélation nécessitait que des séquences virales soient recueillies au sein des troupeaux positifs et donc requérait l'ajout de techniques de biologie moléculaire visant à détecter la présence du virus et d'identifier la séquence virale (PCR et séquençage) (Chapitre 4). La stratégie d'échantillonnage a été adaptée en conséquence. Ainsi, au sein des troupeaux ayant déjà eu un historique clinique de SRRP et présentant des signes cliniques s'apparentant à du SRRP, des nécropsies étaient d'abord effectuées, prélevant des tissus pour lesquels une très bonne persistance tissulaire était rapportée (poumons, amygdales, ganglions). Ceci visait à maximiser les chances d'obtenir une séquence virale afin de pouvoir satisfaire l'objectif 4 de la thèse. Ceci a d'ailleurs été possible grâce à l'excellente participation des producteurs, acceptant de fournir gratuitement de sujets pour la nécropsie. Par contre, en l'absence de signes cliniques où la nécropsie n'étant pas envisageable, du sérum était alors prélevé. Quant à la deuxième stratégie d'échantillonnage, elle a été développée afin de confirmer l'absence d'infection au sein des troupeaux négatifs.

Dans le cadre de l'étude de facteur de risque (Chapitre 3), le statut sanitaire a donc été difficile à définir. En effet, alors que les troupeaux étaient classifiés négatifs sur la base de l'absence d'anticorps au virus SRRP (ELISA), les troupeaux étaient reconnus positifs suite à la présence du virus au sein des animaux échantillonnés (PCR) ou suite à la détection d'anticorps (ELISA). Il a donc été convenu que les sites obtenant des résultats positifs par PCR ou ELISA étaient considérés infectés en raison respectivement de la détection d'animaux infectés arborant le virus ou d'animaux s'étant préalablement infectés et ayant par la suite développé des anticorps. Sous la base de cette définition, une prévalence apparente de sites infectés a donc pu être obtenue. Il devenait par contre rapidement difficile de convertir les résultats obtenus en termes de prévalence réelle. En effet, les animaux étaient alors classifiés au moyen de deux procédures

diagnostiques (ELISA et PCR) ayant des sensibilités et des spécificités différentes tout en ne détectant pas le même phénomène (anticorps versus antigène). De plus, la sensibilité de chaque procédure pouvait dépendre de la présence de signes cliniques au sein des sites ou du type d'échantillons testés (tissus ou sérum pour PCR). Cette imperfection des tests diagnostics a pu conduire à des erreurs de classification du statut sanitaire. Le statut sanitaire positif présenté dans le cadre du chapitre 3 de la thèse était très souvent jumelé à une histoire clinique au sein du troupeau. Ces troupeaux étaient classifiés suite à l'obtention d'un résultat PCR positif (bonne sensibilité et spécificité) et provenait majoritairement de tissus maximisant davantage la sensibilité la procédure et donc limitant le nombre de faux-négatifs. Rappelons également qu'un résultat PCR négatif n'était jamais considéré comme une confirmation du statut sanitaire négatif. En ce sens, l'histoire clinique rapportée par le producteur n'a donc pas pu générer de faux-négatifs. Également, il est peu probable que la stratégie ait généré un grand nombre de faux-positifs puisque du séquençage était effectué suite à l'obtention d'un résultat PCR positif.

Un troupeau faussement classifié négatif aurait pu provenir de la deuxième stratégie d'échantillonnage (30 prises de sang testées par ELISA). La stratégie d'échantillonnage avait été conçue afin de pouvoir confirmer le statut sanitaire négatif en considérant que si le troupeau avait été positif, la séroprévalence aurait été supérieure à 10%. Ce nombre d'animaux a été choisi pour des questions monétaires et de temps. Or, il a été démontré que suite à l'introduction du virus, une séroprévalence très élevée, soit plus de 80%, peut être observée. Il est donc peu probable que cette stratégie ait généré un grand nombre de faux-négatifs, outre les troupeaux étant en début d'infection, la production d'anticorps pouvant prendre de 7 à 10 jours avant d'être détectés par la procédure diagnostique. Quant aux résultats faux-positifs pouvant être générés par l'utilisation d'épreuves sérologiques, une méthode plus spécifique telle que l'immunofluorescence indirecte (IFA), aurait sans doute été préférable dans le but uniquement de confirmer la présence de faux-positifs. Par contre, cette méthode requiert des techniques de culture cellulaire et il y a toujours un risque de faux-négatifs si l'isolat utilisé pour effectuer le test est antigéniquement différent de celui présent sur le site.

Des procédures diagnostiques différentes ont donc été utilisées en fonction de l'histoire clinique rapportée ou non sur le site. Ainsi, si les facteurs d'exposition rapportés sur le site devaient être influencés par l'histoire clinique (Chapitre 3), les erreurs de classification potentielles liées au statut sanitaire seraient difficiles à prédire en termes d'impact sur les

résultats observés. Outre le statut sanitaire obtenu sous la forme dichotomique, une séquence devait être obtenue au sein des troupeaux positifs. Une séquence n'a pas pu être obtenue pour tous les sites positifs au virus SRRP. En effet, pour les élevages ayant des signes et où la nécropsie a été effectuée dans le but de prélever des poumons, des amygdales et des nœuds lymphatiques trachéobronchiques, la probabilité d'identifier une séquence virale était supérieure comparativement aux sites où seul du sérum avait pu être prélevé (persistance tissulaire plus longue que la durée de la virémie). Par conséquent, l'obtention d'une séquence pouvait dépendre de la présence de signes cliniques sur le site. Ceci n'invaliderait pas les différents résultats du chapitre 4 dans le sens où la stratégie d'échantillonnage aurait maximisé l'identification des séquences virales pouvant être associées à un impact clinique au sein des troupeaux affectés et seraient donc particulièrement importantes à considérer.

Analyses statistiques

Au sein des différents articles, les mesures de biosécurité ont été présentées sous la forme de données binaires. Cependant, dans le questionnaire, la plupart étaient présentées sous la forme ordinale (oui, partiel, non). Certaines mesures pouvaient donc être présentes que dans certains bâtiments ou alors appliquées qu'à l'occasion. Les données ont toutefois été recodées de façon à re-classifier les applications partielles en absence de la mesure de façon à ne pas surestimer la biosécurité de l'unité épidémiologique qui était le site de production. Cependant, plus de 75% des variables n'étaient pas affectées par ce type de recodage ou alors il visait moins de 5% des sites. De plus, le nombre de bâtiment par site montrait peu de variation entre les régions et types de production ne pouvant pas expliquer les différences observées. Tout de même, il convient de noter que les efforts nécessaires au rehaussement de la biosécurité auraient pu être surestimés par cette décision méthodologique. À titre d'exemple, la douche était parfois présente, mais prise à la sortie ou alors à l'occasion. Les infrastructures étant alors déjà présentes sur le site, il ne resterait alors à en améliorer l'observance.

Lors du deuxième chapitre de la thèse, les sites de production ont été groupés en différents patrons de biosécurité par une analyse de classification hiérarchique. Il faut tout de même mentionner que préférablement, les sites auraient dû être classifiés de façon à ce que l'un des groupes obtenus représente une biosécurité parfaite. Ceci aurait alors mieux représenté l'effet joint des mesures de biosécurité et aurait également favorisé la mise en évidence d'association avec le statut de sanitaire de l'élevage. En effet, il ne suffit que d'une seule mesure de biosécurité non appliquée, mais spécifique à l'épidémiologie de la maladie pour résulter en un

manque d'association entre le score de biosécurité et le statut sanitaire de l'élevage. Par contre, aucun site ne présentait une biosécurité parfaite expliquant donc l'utilisation d'une autre technique de classification. Les résultats sont bien sûr conditionnels aux variables utilisées aux fins de classification. Contrairement à plusieurs méthodes de classification hiérarchique, la méthode utilisée permettait de choisir de façon plus objective le nombre de groupements représentant mieux les données. L'ordre d'entrée des données peut influencer les résultats de la classification. En générant une table de nombre aléatoire, les sites ont donc pu être redistribués afin de diminuer cet impact potentiel. De plus, la technique ne considérant aucun site ayant des données manquantes, une procédure d'imputation a été réalisée et comparée à l'approche n'incluant pas l'imputation. Ceci a été effectué en vue de conserver l'information pour les sites ne présentant qu'en majorité une seule donnée manquante et sur des variables différentes. Les résultats obtenus ont également été comparés utilisant d'autres méthodes de classification.

Le devis d'étude initial envisageait l'étude des associations entre les différentes variables explicatives et le statut SRRP chez les naisseurs et naisseurs-finisieurs en combinant les sites localisés dans les deux régions géographiques étudiées. L'incorporation des deux régions dans le modèle final a été tentée, mais l'option a finalement été rejetée. Une analyse des données a montré une division des populations en ce qui a trait notamment à la distance entre voisins et la taille de troupeau et aucun modèle statistique n'arrivait à bien représenter les données observées. De plus, considérant la haute prévalence obtenue dans les deux régions et le désir d'investiguer plus précisément les facteurs de risque propres à chaque région, une approche par région a donc été privilégiée afin d'obtenir des estimés qui soient davantage valides, quoique résultant indubitablement en un manque de puissance. L'étude des associations entre les différentes variables explicatives et le statut des sites naisseurs et naisseurs-finisieurs n'a pas été possible au sein de la région de haute densité, principalement en raison d'une forte prévalence d'infection. En effet, seuls 4 troupeaux naisseurs ou naisseurs finisieurs dont la moitié avait moins de 50 truies et un centre d'insémination étaient SRRP négatifs. Une prévalence aussi élevée était observée parmi les sites de pouponnière et/ou d'engraissement. Au sein de ce dernier type de production, une autre difficulté se rajoutait soit l'impossibilité de différencier le statut du site de celui de la source et également de pouvoir contrôler pour la vaccination commerciale lorsque celle-ci était effectuée avant l'arrivée des porcs sur le site de pouponnière ou d'engraissement.

Dans une perspective exploratoire, un grand nombre de variables ont été sélectionnées en regard d'un lien potentiel avec le statut SRRP des sites. Cela a résulté en l'utilisation de stratégie de sélection de variables indépendantes afin de réduire le nombre de variables à tester en fonction de la puissance disponible. Un grand nombre de variables ont donc été testées pour leur association univariée avec le statut SRRP résultant en une plus grande probabilité de commettre une erreur alpha. Le manque de puissance a généré des intervalles de confiance très larges ne permettant pas d'observer une différence significative entre les forces d'association et les fractions populationnelles attribuables rapportées pour les différents effets principaux inclus dans le modèle final. Le manque de puissance a également exclu l'examen des différentes interactions potentielles entre les variables figurant dans le modèle final. Toutefois, la méthodologie utilisée a réussi à tenir compte du potentiel manque d'indépendance entre les sites de production dû au même propriétaire. Outre le modèle final sélectionné, différentes structures de corrélation dans un modèle utilisant les GEE (generalized estimating equations) ont également été testées afin d'ajuster la variance, obtenant difficilement la convergence. Les difficultés à obtenir la convergence de ce type de modèle a également découragé l'utilisation de modèles GAM (generalized additive model) pouvant inclure une fonction de lissage spatial et permettant d'ajuster pour le phénomène d'autocorrélation spatiale. Également, ni la densité de fermes environnantes ou la taille des fermes voisines n'étaient disponibles au moment des analyses, ce qui aurait pu être intéressant à intégrer dans les analyses.

L'étude des corrélations entre les distances génétiques et autres distances a été effectuée sur un territoire comprenant plusieurs municipalités adjacentes en effectuant un recensement volontaire de tous les sites de production de façon à maximiser le nombre de séquences incluses dans l'étude afin d'augmenter la précision pour évaluer la corrélation entre les distances génétiques et géographiques des souches virales. Cependant, considérant un seul investigateur sur le terrain ainsi que les autres facettes du présent projet (présence de biosécurité sur les sites), la plage de temps sur laquelle les sites de production ont été échantillonnés et d'où les séquences ont été collectées est tout de même large, soit entre février 2005 et juin 2007 pour un écart moyen d'environ 200 jours entre les comparaisons de différentes séquences. Ainsi, nous ne pouvons pas présumer que cet écart temporel n'a eu aucun effet sur les homologues observées entre sites de production. Il est possible que deux sites qui avaient des souches similaires dans un espace de temps rapproché aient évolué chacune dans le temps au sein de chaque site. La transmission entre les différents sujets au sein

de l'élevage aurait pu favoriser les mutations et donc l'obtention de souches hétérologues si observées avec un plus grand écart dans le temps. De même, deux troupeaux ayant eu des souches similaires dans une plage rapprochée de temps auraient pu un ou l'autre subir l'introduction d'une nouvelle souche, ce qui aurait eu encore une fois l'effet d'observer deux souches hétérologues après un intervalle. Un scénario ou l'autre a pu réduire le nombre de paires de séquence ayant $\geq 98\%$ homologie, comparativement à une étude transversale réalisée sur très court intervalle de temps.

L'étude a également été réalisée en utilisant une seule séquence par troupeau avec comme hypothèse d'identifier la souche en circulation qui serait alors dominante. Ceci était acceptable pour les motifs visés de la présente étude, mais il n'est pas impossible que cette décision méthodologique ait pu influencer les résultats. Il faut également mentionner que le 98% d'homologie est calculé à l'échelle du segment ORF5 (environ 603 paires de bases). Deux souches ayant la même homologie pairée n'ont donc pas nécessairement subi les mutations au même endroit. De plus, le segment ORF5 n'est qu'une portion du génome. Bien que ce segment ait été choisi à titre de segment le plus génétiquement hypervariable, d'autres mutations situées ailleurs n'ont pas été considérées. Finalement, le potentiel d'ajustement des différentes corrélations bivariées identifiées demeurerait limité à une matrice indépendante pouvant être incluse dans le test de Mantel partiel. De plus, les liens identifiés entre les souches homologues n'ont pu être expliqués que dans leur ensemble, les différentes voies de transmission ne pouvant pas être différenciées.

Directions futures

La présente étude a révélé une prévalence particulièrement élevée du SRRP au sein des deux régions enquêtées, suggérant en soi deux pistes de recherche à développer. Des études de séroprévalence devraient d'abord être entreprises à l'échelle de la province afin de mieux cibler les différentes interventions de contrôle en fonction de la prévalence observée dans chacune des régions. Ainsi les régions où la prévalence est particulièrement faible pourrait être ciblé afin d'effectuer les tentatives de contrôle voire élimination régionale. Une perspective d'ensemble devrait également favoriser l'intégration de plusieurs problématiques telles que le réseau de transport routier et les différents modes de transmission entre fermes qui peuvent opérer sur de grandes distances. Également, bien que l'étude ait davantage ciblé les facteurs de risque pour

l'introduction du virus au sein des sites, une telle prévalence de troupeaux infectés souligne l'importance d'identifier, de comprendre et d'intervenir sur les points critiques pouvant favoriser la persistance du virus au sein des troupeaux préalablement infectés incluant les stratégies d'introduction des animaux de remplacement et autres mesures de biosécurité interne ayant pour but de limiter la transmission du virus au sein des populations infectées.

Le potentiel de transmission de certains réservoirs et de plusieurs vecteurs mécaniques n'a pas été pleinement décrit, la fréquence de contamination étant souvent manquante. Aucune base de données n'est disponible au Québec afin de répertorier les fermettes (élevage de petite envergure et ayant un revenu modeste); leur nombre, localisation, densité et les possibilités d'interactions avec les fermes commerciales sont donc inconnues. Les fermettes devraient donc être répertoriées, géo-localisées et investiguées pour connaître la prévalence de l'infection ainsi que les mesures de biosécurité observées afin de mieux comprendre leur rôle dans l'épidémiologie du SRRP. De plus, la fréquence de contamination sur les différents objets inanimés ou véhicules retrouvés sur les sites, dont le camion d'équarrissage, mériterait d'être examinée tout comme sur les rongeurs et autres mammifères permettant donc de définir pleinement leur rôle de vecteur mécanique.

Le manque de connaissance sur la fréquence et le type de transport de porcs impliqué dans les élevages commerciaux sur le territoire québécois interfère également avec les efforts de régionalisation. Une gestion plus intégrée des différents transports, dans une approche régionale serait importante à développer afin de limiter la dissémination régionale du virus SRRP. En effet, au Québec, sauf au sein de certaines organisations, il n'existe pas d'itinéraires spécifiques établis pour les transports des porcs en fonction du type d'animaux ou alors selon le statut sanitaire des fermes. Ainsi, les différents déplacements au sein du territoire québécois se devraient d'être répertoriés tel qu'au Danemark (Bigras-Poulin *et al.*, 2007), la traçabilité pouvant favoriser à la fois la compréhension et la gestion des maladies présentes de façon endémique telles que le SRRP ou les maladies exotiques. Outre les contacts directs, les contacts indirects au niveau de la ferme devraient également être décrits, car ils représentent un risque pour l'introduction du virus au sein du troupeau.

La présente étude a mis en évidence de sérieuses lacunes de biosécurité et a pu mettre en lien certaines mesures avec le statut SRRP des sites. Bien que ces dernières observations puissent favoriser le rehaussement des pratiques dans les élevages, les motifs pour lesquels la biosécurité

n'était pas davantage promue demeurent inconnus. Une étude descriptive sur la perception de la biosécurité par les producteurs permettrait d'y répondre et de favoriser la promotion sur le terrain. Par ailleurs, dans la perspective où certaines règles de biosécurité externe deviennent obligatoires et se doivent d'être respectées en tout temps, l'étude des différents facteurs modifiant l'observance d'une mesure particulière ainsi que les différentes stratégies pouvant être mises en œuvre pour la favoriser deviennent primordiales. Parallèlement, une étude coût-bénéfice donnerait un incitatif à l'implantation de certaines mesures qui sont souvent délaissées, car elles requièrent un effort quotidien trop important. Par ailleurs, bien que cette thèse visait l'évaluation de mesures de biosécurité plus spécifiques à l'épidémiologie du SRRP, le concept de la biosécurité demeure essentiel advenant l'introduction d'une maladie exotique, mais également face aux différentes maladies présentes de façon endémique sur le territoire québécois. En effet, plusieurs mesures seraient d'une grande utilité afin de gérer d'autres problématiques sanitaires. Ainsi, des études coût-bénéfice entreprises dans une approche plus globale permettrait d'inciter davantage les différents partenaires de l'industrie à l'application de la biosécurité.

Le devis utilisé dans cette étude ne permettant pas de gérer l'aspect temporel des associations observées avec le statut SRRP, des études supplémentaires en l'occurrence de type cohorte supporteraient davantage la validité des inférences faites dans le cadre de la présente étude permettant d'évaluer la séquence des événements sans être biaisées par la durée de l'infection au sein des troupeaux. Des études incluant un plus grand nombre de troupeaux favoriseraient par le fait même l'identification de facteurs de risque ayant un effet moindre ainsi que l'étude des différentes interactions pouvant avoir lieu entre les effets principaux identifiés en particulier entre les diverses mesures de biosécurité. De plus, le suivi de troupeaux négatifs permettrait également d'obtenir des données concernant l'incidence annuelle, essentielle afin d'évaluer l'impact économique de la maladie au Québec. Afin de pouvoir pleinement retirer les avantages d'un suivi longitudinal, il serait essentiel de connaître avec le plus d'exactitude possible le moment d'introduction d'une nouvelle souche au sein des troupeaux négatifs et positifs. Pour la plupart des troupeaux, ceci n'est pas une tâche facile et ce, particulièrement pour les troupeaux positifs où une recrudescence des signes cliniques pourrait être due à la fois à une l'introduction d'une nouvelle souche ou alors à la réactivation de la circulation d'une souche endémique. Par conséquent, outre la détection de signes cliniques s'apparentant à une crise de SRRP, des démarches diagnostiques soutenues intégrant l'usage du séquençage

devraient faire partie intégrante du processus. L'intérêt de recherche de clarifier les facteurs de risque liés à l'introduction du virus serait donc parfaitement conjugable aux différentes initiatives de contrôle régional de l'infection regroupant producteurs, vétérinaires et autres intervenants de l'industrie porcine. De plus, en termes de surveillance active du territoire donné, les informations obtenues sur le territoire concernant le statut sanitaire des élevages devraient être connues le plus rapidement possible par les différents acteurs afin de faciliter le contrôle régional de l'infection. Évidemment, la mise en commun des résultats concernant le statut sanitaire des élevages est une procédure délicate et exigerait la signature de contrat autorisant leurs divulgations aux membres inclus au sein des différents regroupements. Par contre, cette approche faciliterait grandement la gestion de la maladie sur le terrain en facilitant la communication entre différents acteurs de l'industrie porcine dont la collaboration est essentielle.

Finalement, l'étude de corrélation a été effectuée à titre exploratoire et a suggéré des voies de transmission importantes qui peuvent inclure plusieurs mécanismes. En utilisant les souches virales, l'étude des liens épidémiologiques entre les sites de production pourrait alors être développée davantage suite à une investigation plus poussée des points communs entre les fermes afin de dégager une fréquence plus précise associée aux différents mécanismes. Ces informations seraient primordiales afin de prioriser les différentes interventions de contrôle régional tentées sur le terrain. Par ailleurs, l'évaluation de la distribution spatio-temporelle des souches virales au sein de différentes régions tout comme l'identification des facteurs favorisant la diversité génétique serait également une autre avenue de recherche afin de clarifier l'épidémiologie de la maladie et donc le contrôle de la maladie au Québec.

Conclusion

La présente étude a permis de déterminer certains facteurs associés au statut SRRP des sites de production afin de mieux comprendre l'épidémiologie de cette maladie au Québec et éventuellement, mieux la contrôler. Des conclusions plus spécifiques ont pu être générées :

1. Des lacunes importantes ont été identifiées concernant les stratégies d'introduction des cochettes de remplacement, en particulier l'acclimatation, ce qui représente un risque potentiel pour l'introduction du virus ou pour la recirculation d'une souche endémique au sein d'un troupeau reproducteur.
2. Certaines mesures de biosécurité spécifiques, dont les mesures d'hygiène relatives au protocole d'entrée, ont particulièrement besoin d'être rehaussées. Les interventions peuvent être orientées en fonction des régions, des types de production et parfois de la localisation géographique des sites.
3. Malgré une prévalence apparente élevée, quatre facteurs associés au statut SRRP positif des sites ont été mis en évidence au sein de la région à densité modérée, soit un inventaire important, la proximité du site porcin avoisinant, l'absence de douche ainsi que le libre accès au site par l'équarrisseur. Comparativement à l'évaluation des mesures de biosécurité spécifiques, les résultats ne supportent pas l'utilisation d'un index global dans l'évaluation de l'association entre la biosécurité et le statut SRRP des sites de production.
4. Au sein de la région à haute densité, les corrélations positives observées entre différentes distances calculées pour chaque paire de souches virales recueillies sous-tendent l'importance de la propagation régionale et des différents mécanismes de transmission reliés au fait d'avoir le même propriétaire.

Sources documentaires

- Albina, E., 1997. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview. *Vet. Microbiol.* 55, 309-316.
- Albina, E., Carrat, C., Charley, B., 1998. Interferon-alpha response to swine arterivirus (PoAV), the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Interferon cytokine Res.* 18, 485-490.
- Albina, E., Madec, F., Cariolet, R., Torrison, J., 1994. Immune response and persistence of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus in infected pigs and farm units. *Vet. Rec.* 134, 567-573.
- Albina, E., Mesplede, A., Chenut, G., Le Potier, M.F., Bourbao, G., Le Gal, S., Leforban, Y., 2000. A serological survey on classical swine fever (CSF), Aujeszky's disease (AD) and porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infections in French wild boars from 1991 to 1998. *Vet. Microbiol.* 77, 43-57.
- Allende, R., Laegreid, W.W., Kutish, G.F., Galeota, J.A., Wills, R.W., Osorio, F.A., 2000. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: description of persistence in individual pigs upon experimental infection. *J. Virol.* 74, 10834-10837.
- Allende, R., Lewis, T.L., Lu, Z., Rock, D.L., Kutish, G.F., Ali, A., Doster, A.R., Osorio, F.A., 1999. North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome viruses differ in non-structural protein coding regions. *J. Gen. Virol.* 80 (Pt 2), 307-315.
- Alvarez, R.M., Amass, S.F., Stevenson, G.W., Spicer, P.M., Anderson, C., Ragland, D., Grote, L., Dowell, C., Clark, L.K., 2001. Evaluation of biosecurity protocols to prevent mechanical transmission of transmissible gastroenteritis virus of swine by pork production unit personnel. *Pig J.* 48, 22-33.
- Amass, S.F., Clark, L.K., 1999. Biosecurity considerations for pork production units. *J. Swine Health Prod.* 7, 217-228.
- Amass, S.F., Halbur, P.G., Byrne, B.A., Schneider, J.L., Koons, C.W., Cornick, N., Ragland, D., 2003a. Mechanical transmission of enterotoxigenic *Escherichia coli* to weaned pigs by people, and biosecurity procedures that prevented such transmission. *J. Swine Health Prod.* 11, 61-68.

- Amass, S.F., Mason, P.W., Pacheco, J.M., Miller, C.A., Ramirez, A., Clark, L.K., Ragland, D., Schneider, J.L., Kenyon, S.J., 2004. Procedures for preventing transmission of foot-and-mouth disease virus (O/TAW/97) by people. *Vet. Microbiol.* 103, 143-149.
- Amass, S.F., Pacheco, J.M., Mason, P.W., Schneider, J.L., Alvarez, R.M., Clark, L.K., Ragland, D., 2003b. Procedures for preventing the transmission of foot-and-mouth disease virus to pigs and sheep by personnel in contact with infected pigs. *Vet. Rec.* 153, 137-140.
- Amass, S.F., Ragland, D., Spicer, P., 2003c. Evaluation of the efficacy of a peroxygen compound, Virkon^(R)S, as a boot bath disinfectant. *J. Swine Health Prod.* 9, 121-123.
- Amass, S.F., Stevenson, G.W., Anderson, C., Grote, L.A., Dowell, C., Vyverberg, B.D., Kanitz, C., Ragland, D., 2000a. Investigation of people as mechanical vectors for porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 8, 161-166.
- Amass, S.F., Vyverberg, B.D., Ragland, D., Dowell, C.A., Anderson, C.D., Stover, J.H., Beaudry, D.J., 2000b. Evaluating the efficacy of boot baths in biosecurity protocols. *J. Swine Health Prod.* 8, 169-173.
- Anon, 2005. SPF-Denmark, Annual Report 2003-2004 Director of SPF-SUS Denmark., Bjørn Lorenzen, p. 24.
- Austin, C.C., Weigel, R.M., Hungerford, L.L., Biehl, L.G., 1993. Factors affecting the risk of infection with pseudorabies virus in Illinois swine herds. *Prev. Vet. Med.*, 161-173.
- Auvigne, V., Robert, F., Mathonnet, J.A., Cambriels, L., 1994. The porcine reproductive and respiratory syndrome: clinical signs, serological investigations and piglets losses during the year after contamination. In: *Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr.*, Bangkok, Thailand, 100.
- Baker, R.B., Yu, W., Fuentes, M., Johnson, C.R., Peterson, L., Rossow, K., Daniels, S., Daniels, A.M., Polson, D., Murtaugh, M.P., 2007. Prairie dog (*Cynomys ludovicianus*) is not a host for porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 15, 22-29.
- Baker, S., Mondaca-Fernandez, E., Polson, D., 2010. Evaluation of a needle-free injection system (AcuShotTM) for reduction of hematogenous transmission of PRRS virus. In: *Proc. Allen D. Lemay Swine Conf.*, Minnesota, 39-40.
- Banfield, A.W.F., 1974. *Les mammifères du Canada*, Les Presses de l'Université Laval, Québec.

- Baptista, F.M., Alban, L., Nielsen, L.R., Domingos, I., Pomba, C., Almeida, V., 2010. Use of herd information for predicting *Salmonella* status in pig herds. *Zoonose Public Health* 57 Suppl 1, 49-59.
- Barcelo, J., Marco, E., 1998. On farm biosecurity. In: Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., Birmingham, United Kingdom, 129-133.
- Baron, T., Albina, E., Leforban, Y., Madec, F., Guilamoto, H., Plana Duran, J., Vannier, P., 1992. Report on the first outbreaks of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in France. Diagnosis and viral isolation. *Ann. Rech. Vet.* 23, 161-166.
- Barrington, G.M., Allen, A.J., Parish, S.M., Tibary, A., 2006. Biosecurity and biocontainment in alpaca operations. *Small Rumin. Res.* 61, 217-225.
- Bates, T.W., Thurmond, M.C., Carpenter, T.E., 2001. Direct and indirect contact rates among beef, dairy, goat, sheep, and swine herds in three California counties, with reference to control of potential foot-and-mouth disease transmission. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1121-1129.
- Batista, L., 2005. Porcine reproductive and respiratory syndrome diagnostics in the breeding herd: Back to the basics. *J. Swine Health Prod.* 13, 96-98.
- Batista, L., Dee, S.A., Rossow, K.D., Deen, J., Pijoan, C., 2002a. Assessing the duration of persistence and shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large population of breeding-age gilts. *Can. J. Vet. Res.* 66, 196-200.
- Batista, L., Fernandez, M., Miramontes, J., Pliego, R., Mondaca, M., 2010. Advancing PRRS area regional control in the state of Sonora, Mexico. In: Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., Vancouver, Canada, 274.
- Batista, L., Pijoan, C., Baido, S., 2003a. Eradication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS) by serum inoculation with the homologous PRRSV strain. In: Proc. Allen D. Leman Swine Conf., Minnesota, 12.
- Batista, L., Pijoan, C., Dee, S., Olin, M., Molitor, T., Joo, H.S., Xiao, Z., Murtaugh, M., 2004. Virological and immunological responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large population of gilts. *Can. J. Vet. Res.* 68, 267-273.
- Batista, L., Pijoan, C., Lwamba, H., Johnson, C.R., Murtaugh, M.P., 2003b. Genetic diversity and possible avenues of dissemination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in two geographic regions of Mexico. *J. Swine Health Prod.* 12, 170-175.

- Batista, L., Pijoan, C., Torremorell, M., 2002b. Experimental injection of gilts with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) during acclimatization. *J. Swine Health Prod.* 10, 147-150.
- Bautista, E.M., Goyal, S.M., Collins, J.E., 1993a. Serologic survey of Lelystad virus and VR-2332 strains of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in US swine herds. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 612-614.
- Bautista, E.M., Goyal, S.M., Yoon, I.J., Joo, H.S., Collins, J.E., 1993b. Comparison of porcine alveolar macrophages and CL 2621 for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus and anti-PRRS antibody. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 163-165.
- Bautista, E.M., Molitor, T.W., 1997. Cell-mediated immunity to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine. *Viral Immunol.* 10, 83-94.
- Bautista, E.M., Molitor, T.W., 1999. IFN gamma inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication in macrophages. *Arch. Virol.* 144, 1191-1200.
- Bautista, E.M., Morrison, R.B., Goyal, S.M., 1993c. Seroprevalence of PRRS virus in United States. *J. Swine Health Prod.* 1, 4-8.
- Bautista, E.M., Suarez, P., Molitor, T.W., 1999. T cell responses to the structural polypeptides of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Arch. Virol.* 144, 117-134.
- Benfield, D., Nelson, J., Rossow, K., Nelson, C., Steffen, M., Rowland, R., 2000. Diagnosis of persistent or prolonged porcine reproductive and respiratory syndrome virus infections. *Vet. Res.* 31, 71.
- Benfield, D.A., Collins, J.E., Jenny, A.L., Loula, T.J., 1992a. Porcine reproductive and respiratory syndrome. In: Leman, A.D., Straw, B.E., Mengeling, W.L., D'Allaire, S., Taylor, D.J. (Eds.), *Diseases of Swine*, 7th edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 756-762.
- Benfield, D.A., Nelson, E., Collins, J.E., Harris, L., Goyal, S.M., Robison, D., Christianson, W.T., Morrison, R.B., Gorcyca, D., Chladek, D., 1992b. Characterization of swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus (isolate ATCC VR-2332). *J. Vet. Diagn. Invest.* 4, 127-133.
- Benfield, D.A., Yaeger, M.J., Collins, J.E., 1994. Experimental studies on the transmission and persistence of swine infertility and respiratory disease virus (Mystery Swine Disease). Research Investment Report. National Pork Producers Council, Des Moines, Iowa, 5-14.

- Bierk, M.D., Dee, S.A., Rossow, K.D., Collins, J.E., Guedes, M.I., Pijoan, C., Molitor, T.W., 2001a. A diagnostic investigation of chronic PRRS virus infection in a swine breeding herd. *Vet. Rec.* 148, 687-690.
- Bierk, M.D., Dee, S.A., Rossow, K.D., Otake, S., Collins, J.E., Molitor, T.W., 2001b. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from persistently infected sows to contact controls. *Can. J. Vet. Res.* 65, 261-266.
- Bigras-Poulin, M., Barfod, K., Mortensen, S., Greiner, M., 2007. Relationship of trade patterns of the Danish swine industry animal movements network to potential disease spread. *Prev. Vet. Med.* 80, 143-165.
- Bilodeau, R., Archambault, D., Vézina, S.A., Sauvageau, R., Fournier, M., Dea, M., 1994. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in a swine operation. *Can. J. Vet. Res.* 58, 291-298.
- Blaha, T., 2000. The "colorful" epidemiology of PRRS. *Vet. Res.* 31, 77-83.
- Bloemraad, M., de Kluijver, E.P., Petersen, A., Burkhardt, G.E., Wensvoort, G., 1994. Porcine reproductive and respiratory syndrome: temperature and pH stability of Lelystad virus and its survival in tissue specimens from viraemic pigs. *Vet. Microbiol.* 42, 361-371.
- Boklund, A., Alban, L., Mortensen, S., Houe, H., 2004. Biosecurity in 116 Danish fattening swineherds: descriptive results and factor analysis. *Prev. Vet. Med.* 66, 49-62.
- Boklund, A., Mortensen, S., Houe, H., 2003. Biosecurity in 121 Danish sow herds. *Acta Vet Scand Suppl* 100, 5-14.
- Botner, A., 2003. The PRRS situation in Denmark, Norway, Finland and Sweden. In: Zimmerman, J., Yoon, K.-J. (Eds.), 2003 PRRS Compendium Producer Edition. National Pork Board, Des moines, Iowa, 233-238.
- Botner, A., Nielsen, J., Bille-Hansen, V., 1994. Isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a Danish swine herd and experimental infection of pregnant gilts with the virus. *Vet. Microbiol.* 40, 351-360.
- Boutin, R., 2001. La biosécurité à la ferme : un « must » pour tous les élevages ! In: Comptes-rendus du 22e colloque sur la production porcine, Saint-Hyacinthe, Québec, 57-81.
- Brockmeier, S.L., Lager, K.M., 2002. Experimental airborne transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Bordetella bronchiseptica*. *Vet. Microbiol.* 89, 267-275.

- Broes, A., 2002. Les mesures de biosécurité dans les élevages porcins québécois. In: Comptes-rendus de la Journée: "De la démarche hygiène à la biosécurité", Ploufragan, France, 1-10.
- Broes, A., Boutin, R., 2004. Biosecurity: A must for the entire hog production industry. Centre de développement du porc du québec inc. , Sainte-Foy, Québec, 1-12.
- Buddaert, W., Van Reeth, K., Pensaert, M., 1998. In vivo and in vitro interferon (IFN) studies with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Adv. Exp. Med. Biol.* 440, 461-467.
- Cai, H.Y., Alexander, H., Carman, S., Lloyd, D., Josephson, G., Maxie, M.G., 2002. Restriction fragment length polymorphism of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses recovered from Ontario farms, 1998-2000. *J. Vet. Diagn. Invest.* 14, 343-347.
- Cano, J.P., Dee, S.A., Murtaugh, M.P., Pijoan, C., 2007a. Impact of a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine intervention on a population of pigs infected with a heterologous isolate. *Vaccine* 25, 4382-4391.
- Cano, J.P., Dee, S.A., Murtaugh, M.P., Trincado, C.A., Pijoan, C.B., 2007b. Effect of vaccination with a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine on dynamics of homologous viral infection in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 68, 565-571.
- Cano, J.P., Murtaugh, M.P., Dee, S.A., 2007c. Evaluation of the survival of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in non-processed pig meat. *Vet. Rec.* 160, 907-908.
- Canon, N., Audige, L., Denac, H., Hofmann, M., Griot, C., 1998. Evidence of freedom from porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in Switzerland. *Vet. Rec.* 142, 142-143.
- Carlsson, U., Wallgren, P., Renstrom, L.H., Lindberg, A., Eriksson, H., Thoren, P., Eliasson-Selling, L., Lundeheim, N., Norregard, E., Thorn, C., Elvander, M., 2009. Emergence of porcine reproductive and respiratory syndrome in Sweden: detection, response and eradication. *Transbound Emerg. Dis.* 56, 121-131.
- Carman, S., Sanford, S.E., Dea, S., 1995. Assessment of seropositivity to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in swine herds in Ontario--1978 to 1982. *Can. Vet. J.* 36, 776-777.

- Casal, J., De Manuel, A., Mateu, E., Martin, M., 2007. Biosecurity measures on swine farms in Spain: perceptions by farmers and their relationship to current on-farm measures. *Prev. Vet. Med.* 82, 138-150.
- Castanon Garbarino, R., 2010. The national PRRS eradication program in Chile, a public-private partnership experience. The Hague, Chile.
- Cavanagh, D., 1997. Nidovirales: a new order comprising *Coronaviridae* and *Arteriviridae*. *Arch. Virol.* 142, 629-633.
- Chang, C.C., Chung, W.B., Lin, M.W., Weng, C.N., Yang, P.C., Chiu, Y.T., Chang, W.F., M., C.R., 1993. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in Taiwan. I. Viral isolation. *J. Chin. Soc. Vet. Sci.* 19, 268-276.
- Chang, C.C., Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., Harmon, K.M., Dixon, P.M., Dvorak, C.M., Murtaugh, M.P., 2002. Evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during sequential passages in pigs. *J. Virol.* 76, 4750-4763.
- Charron, I., Gouin, D.M., Julien, S.S., Paillat, N., 2003. L'évolution de la production porcine québécoise face aux défis passés et actuels-Rapport final. Association québécoise des industries de nutrition animale et céréalière (AQUINAC), Sainte-Foy, Québec, 100p.
- Cheon, D.S., Chae, C., Lee, Y.S., 1997. Seroprevalence of antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus using enzyme-linked immunosorbent assay in selected herds in Korea. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 434-436.
- Cho, J.G., Dee, S.A., 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 66, 655-662.
- Cho, J.G., Dee, S.A., Deen, J., Trincado, C., Fano, E., Jiang, Y., Faaberg, K., Murtaugh, M.P., Guedes, A., Collins, J.E., Joo, H.S., 2006. The impact of animal age, bacterial coinfection, and isolate pathogenicity on the shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols from experimentally infected pigs. *Can. J. Vet. Res.* 70, 297-301.
- Cho, J.G., Deen, J., Dee, S.A., 2007. Influence of isolate pathogenicity on the aerosol transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 71, 23-27.
- Cho, S.H., Freese, W.R., Yoon, I.J., Trigo, A.V., Joo, H.S., 1993. Seroprevalence of indirect fluorescent antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in selected swine herds. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 259-260.

- Christensen, L.S., Mousing, J., Mortensen, S., Soerensen, K.J., Strandbygaard, S.B., Henriksen, C.A., Andersen, J.B., 1990. Evidence of long distance airborne transmission of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus. *Vet. Rec.* 127, 471-474.
- Christianson, W.T., Choi, C.S., Collins, J.E., Molitor, T.W., Morrison, R.B., Joo, H.S., 1993. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in mid-gestation sows and fetuses. *Can. J. Vet. Res.* 57, 262-268.
- Christianson, W.T., Collins, J.E., Benfield, D.A., 1992. Experimental reproduction of swine infertility and respiratory syndrome in pregnant sows. *Am. J. Vet. Res.* 53, 485-488.
- Christianson, W.T., Joo, H.S., 1994. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a review. *J. Swine Health Prod.* 2, 10-28.
- Christopher-Hennings, J., Faaberg, K.S., Murtaugh, M.P., Nelson, E.A., Roof, M.B., Vaughn, E.M., Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., 2002. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) diagnostics: Interpretation and limitations. *J. Swine Health Prod.* 10, 213-218.
- Christopher-Hennings, J., Holler, L.D., Benfield, D.A., Nelson, E.A., 2001. Detection and duration of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen, serum, peripheral blood mononuclear cells, and tissues from Yorkshire, Hampshire, and Landrace boars. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13, 133-142.
- Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Hines, R.J., Nelson, J.K., Swenson, S.L., Zimmerman, J.J., Chase, C.L., Yaeger, M.J., Benfield, D.A., 1995a. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7, 456-464.
- Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Nelson, J.K., Benfield, D.A., 1997. Effects of a modified-live virus vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in boars. *Am. J. Vet. Res.* 58, 40-45.
- Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Nelson, J.K., Hines, R.J., Swenson, S.L., Hill, H.T., Zimmerman, J.J., Katz, J.B., Yaeger, M.J., Chase, C.C., et al., 1995b. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in boar semen by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33, 1730-1734.
- Chung, W.B., Lin, M.W., Chang, W.F., Hsu, M., Yang, P.C., 1997. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in intensive farrow-to-finish pig herds. *Can. J. Vet. Res.* 61, 292-298.

- Cianni-Zanella, J.R., Trombetta, C., Vargas, I., da Costa, D.E.M., 2004. Lack of evidence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRSV) infection in domestic swine in Brazil. *Cienc. Rural* 34, 449-455.
- Clements, A.N., 1999. *The Biology of Mosquitoes. Vol. 2: Sensory Reception and Behavior.* CABI publishing, New York.
- Collins, J.E., Benfield, D.A., Christianson, W.T., Harris, L., Hennings, J.C., Shaw, D.P., Goyal, S.M., McCullough, S., Morrison, R.B., Joo, H.S., et al., 1992. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4, 117-126.
- Conseil canadien du porc, 2004. Programme d'assurance de la qualité. "Assurance qualité canadienne" (AQC^{MD}), Manuel du producteur, 2e version. pp. D6-1- D6-4.
- Conzelmann, K.K., Visser, N., Van Woensel, P., Thiel, H.J., 1993. Molecular characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, a member of the arterivirus group. *Virology* 193, 329-339.
- Corrigan, R.M., 2001. An overview of rodent control for commercial pork production operations. *Swine Health Epidemiol.*, special biosecurity issue, 8-9.
- Corzo, C.A., Mondaca, E., Wayne, S., Torremorell, M., Dee, S., Davies, P., Morrison, R.B., 2010. Control and elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Res.* 154, 185-192.
- Costard, S., Porphyre, V., Messad, S., Rakotondrahanta, S., Vidon, H., Roger, F., Pfeiffer, D.U., 2009. Multivariate analysis of management and biosecurity practices in smallholder pig farms in Madagascar. *Prev. Vet. Med.* 92, 199-209.
- Cuartero, L., Dee, S., Deen, J., Ruiz, A., Pijoan, C., 2002. Association between clinical signs and high serum titers of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in nursery pigs under field conditions. *J. Swine Health Prod.* 10, 118-121.
- D'Allaire, S., 2000. Le sevrage précoce avec ségrégation des porcelets: 10 ans après, où en sommes-nous? Les experts nous répondent. *Méd. Vét. Québec* 20, 210-213.
- Dargatz, D.A., Garry, F.B., Traub-Dargatz, J.L., 2002. An introduction to biosecurity of cattle operations. *Vet Clin Food Anim* 18, 1-5.
- de Klerk, P.F., 2002. Carcass disposal: lessons from the Netherlands after the foot and mouth disease outbreak of 2001. *Rev. - Off. Int. Epizoot.* 21, 789-796.

- Dea, S., Bilodeau, R., Athanassious, R., Sauvageau, R., Martineau, G.P., 1992. Swine reproductive and respiratory syndrome in Quebec: Isolation of an enveloped virus serologically-related to Lelystad virus. *Can. Vet. J.* 33, 801-808.
- Dea, S., Sawyer, N., Alain, R., Athanassious, R., 1995. Ultrastructural characteristics and morphogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus propagated in the highly permissive MARC-145 cell clone. *Adv. Exp. Med. Biol.* 380, 95-98.
- Dee, S., 1996. The porcine respiratory disease complex: are subpopulations important? *J. Swine Health Prod.* 4, 147-149.
- Dee, S., 1998. Using vaccination and unidirectional pig flow to control PRRSV transmission *J. Swine Health Prod.* 6, 21-25.
- Dee, S., Batista, L., Deen, J., Pijoan, C., 2005a. Evaluation of an air-filtration system for preventing aerosol transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 69, 293-298.
- Dee, S., Davies, P., Spronk, G., 2010a. A pilot study to evaluate the efficacy of air filtration in large sow herds located in swine-dense regions. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Vet. Annu. Meet., Omaha, Nebraska*, pp. 107-108.
- Dee, S., Deen, J., Burns, D., Douthit, G., Pijoan, C., 2004a. An assessment of sanitation protocols for commercial transport vehicles contaminated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 68, 208-214.
- Dee, S., Deen, J., Burns, D., Douthit, G., Pijoan, C., 2005b. An evaluation of disinfectants for the sanitation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-contaminated transport vehicles at cold temperatures. *Can. J. Vet. Res.* 69, 64-70.
- Dee, S., Deen, J., Pijoan, C., 2004b. Evaluation of 4 intervention strategies to prevent the mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 68, 19-26.
- Dee, S., Deen, J., Rossow, K., Weise, C., Eliason, R., Otake, S., Joo, H.S., Pijoan, C., 2003. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during warm weather. *Can. J. Vet. Res.* 67, 12-19.
- Dee, S., Deen, J., Rossow, K., Wiese, C., Otake, S., Joo, H.S., Pijoan, C., 2002. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather. *Can. J. Vet. Res.* 66, 232-239.

- Dee, S., Joo, H.S., 1993. PRRS clinical management and control: eradication from herds In: Proc. Allen D. Leman Swine Conf., Minnesota, 93-97.
- Dee, S., Morrison, R., Joo, H., 1993. Eradicating porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus using two-site production and nursery depopulation. *J. Swine Health Prod.* 1, 20-23.
- Dee, S., Otake, S., Deen, J., 2010b. Use of a production region model to assess the efficacy of various air filtration systems for preventing airborne transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*: Results from a 2-year study. *Virus Res.* 154, 177-184.
- Dee, S., Otake, S., Deen, J., 2011. An evaluation of ultraviolet light (UV₂₅₄) as a means to inactivate porcine reproductive and respiratory syndrome virus on common farm surfaces and materials. *Vet. Microbiol.* 150, 96-99.
- Dee, S., Otake, S., Oliveira, S., Deen, J., 2009. Evidence of long distance airborne transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Res.* 40, 39.
- Dee, S., Spronk, G., Reicks, D., Ruen, P., Deen, J., 2010c. Further assessment of air filtration for preventing PRRSV infection in large breeding pig herds. *Vet. Rec.* 167, 976-977.
- Dee, S., Torremorell, M., Thompson, B., Deen, J., Pijoan, C., 2005c. An evaluation of thermo-assisted drying and decontamination for the elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from contaminated livestock transport vehicles. *Can. J. Vet. Res.* 69, 58-63.
- Dee, S.A., 1997. An overview of production systems designed to prepare naïve replacement gilts for impending PRRSV challenge: A global perspective. *J. Swine Health Prod.* 5, 231-239.
- Dee, S.A., 2003. Principles of prevention, control and eradication. In: Zimmerman, J.J., Yoon, K.J. (Eds.), 2003 PRRS Compendium Producer Edition. National Pork Board, Des Moines, Iowa, 78-87.
- Dee, S.A., 2004. Elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from 30 farms by test and removal. *J. Swine Health Prod.* 12, 129-133.
- Dee, S.A., Batista, L., Deen, J., Pijoan, C., 2006a. Evaluation of systems for reducing the transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by aerosol. *Can. J. Vet. Res.* 70, 28-33.

- Dee, S.A., Bierk, M.D., Deen, J., Molitor, T.W., 2001a. An evaluation of test and removal for the elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from 5 swine farms. *Can. J. Vet. Res.* 65, 22-27.
- Dee, S.A., Deen, J., Cano, J.P., Batista, L., Pijoan, C., 2006b. Further evaluation of alternative air-filtration systems for reducing the transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by aerosol. *Can. J. Vet. Res.* 70, 168-175.
- Dee, S.A., Deen, J., Jacobson, L., Rossow, K.D., Mahlum, C., Pijoan, C., 2005d. Laboratory model to evaluate the role of aerosols in the transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Rec.* 156, 501-504.
- Dee, S.A., Deen, J., Otake, S., Pijoan, C., 2004c. An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *Can. J. Vet. Res.* 68, 128-133.
- Dee, S.A., Joo, H., Pijoan, C., 1995. Controlling the spread of PRRS virus in the breeding herd through management of the gilt pool. *J. Swine Health Prod.* 3, 64-69.
- Dee, S.A., Joo, H.S., 1994a. Factors involved in successful eradication of PRRS virus using nursery depopulation. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Pract. Annu. Meet., Chicago, Illinois*, 239-243.
- Dee, S.A., Joo, H.S., 1994b. Prevention of the spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in endemically infected pig herds by nursery depopulation. *Vet. Rec.* 135, 6-9.
- Dee, S.A., Joo, H.S., Park, B.K., Molitor, T.W., Bruna, G., 1998. Attempted elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from a seedstock farm by vaccination of the breeding herd and nursery depopulation. *Vet. Rec.* 142, 569-572.
- Dee, S.A., Joo, H.S., Polson, D.D., 1996. Improved performance of a large pig complex after sequential nursery depopulation. *Vet. Rec.* 138, 31-34.
- Dee, S.A., Joo, H.S., Polson, D.D., Marsh, W.E., 1997. Evaluation of the effects of nursery depopulation of the profitability of 34 pig farms. *Vet. Rec.* 140, 498-500.
- Dee, S.A., Martinez, B.C., Clanton, C., 2005e. Survival and infectivity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine lagoon effluent. *Vet. Rec.* 156, 56-57.
- Dee, S.A., Molitor, T.W., Rossow, K.D., 2000. Epidemiological and diagnostic observations following the elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from a breeding herd of pigs by the test and removal protocol. *Vet. Rec.* 146, 211-213.

- Dee, S.A., Torremorell, M., Rossow, K., Mahlum, C., Otake, S., Faaberg, K., 2001b. Identification of genetically diverse sequences (ORF 5) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a swine herd. *Can. J. Vet. Res.* 65, 254-260.
- Dee, S.A., Torremorell, M., Thompson, R., Cano, J.P., Deen, J., Pijoan, C., 2007. Evaluation of the thermo-assisted drying and decontamination system for sanitation of a full-size transport vehicle contaminated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 15, 12-18.
- Denicourt, M., Klopfenstein, C., 2004. La cochette de 5 kg comme truie de remplacement, les principes d'une bonne stratégie sanitaire. *Porc Québec*, 1-4.
- Desrosiers, R., Boutin, M., 2002. An attempt to eradicate porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) after an outbreak in a breeding herd: eradication strategy and persistence of antibody titers in sows. *J. Swine Health Prod.* 10, 23-25.
- Domingo, E., Escarmis, C., Sevilla, N., Moya, A., Elena, S.F., Quer, J., Novella, I.S., Holland, J.J., 1996. Basic concepts in RNA virus evolution. *FASEB J.* 10, 859-864.
- DuBois, P., 2007. Costs and benefits of herd closure associated with PRRS eradication. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Vet. Annu. Meet., Orlando, Florida*, 19-20.
- Ebeling, W., 1975. *Urban Entomology*. University of California Press Davis, CA.
- Edwards, S., Robertson, I.B., Wilesmith, J.W., Ryan, J.B., Kilner, C.G., Paton, D.J., Drew, T.W., Brown, I., Sands, J., 1992. PRRS (blue-eared pig disease"). In: *Great Britain Am. Assoc. Swine Pract. Newsl.* 4, 32-36.
- Elbers, A.R.W., Stegeman, A., Jong, M.D., de Jong, M.C.M., 2001. Factors associated with the introduction of classical swine fever virus into the pig herds in the central area of the 1997/1998 epidemic in The Netherlands. *Vet. Res.* 149, 377-382.
- Elvander, M., Larsson, B., Engvall, A., Klingeborn, B., Gunarsson, A., 1997. Nation-wide surveys of TGE/PRCV, CSF, PRRS, SVD, L. Pomona, and B. suis in pigs in Sweden. *Épidémiol. santé anim.* 31-32, B.39.
- Evans, C.M., Medley, G.F., Creasey, S.J., Green, L.E., 2010. A stochastic mathematical model of the within-herd transmission dynamics of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): fade-out and persistence. *Prev. Vet. Med.* 93, 248-257.
- Evans, C.M., Medley, G.F., Green, L.E., 2008. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in GB pig herds: farm characteristics associated with heterogeneity in seroprevalence. *BMC Vet. Res.* 4, 1-11.

- Fano, E., Pijoan, C., Dee, S., 2005. Evaluation of the aerosol transmission of a mixed infection of *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Rec.* 157, 105-108.
- Fernandez, A., Suarez, P., Castro, J.M., Tabares, E., Diaz-Guerra, M., 2002. Characterization of regions in the GP5 protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus required to induce apoptotic cell death. *Virus Res.* 83, 103-118.
- Flori, J., Mousing, J., Gardner, I., Willeberg, P., Have, P., 1995. Risk factors associated with seropositivity to porcine respiratory *coronavirus* in Danish swine herds. *Prev. Vet. Med.* 25, 51-62.
- Food and Agriculture Organization of United Nations, 2007. Dossier FAO sur la biosécurité. Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO), Rome, Italy, Retrieved from <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1140f/a1140f00.pdf>.
- Foss, D.L., Zilliox, M.J., Meier, W., Zuckermann, F., Murtaugh, M.P., 2002. Adjuvant danger signals increase the immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Viral Immunol.* 15, 557-566.
- Freese, W.R., Joo, H.S., 1994. Cessation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus spread in a commercial swine herd. *J. Swine Health Prod.* 2, 13-15.
- Gardner, I.A., Willeberg, P., Mousing, J., 2002. Empirical and theoretical evidence for herd size as a risk factor for swine diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 3, 43-55.
- Garner, M.G., Gleeson, L.J., Holyoake, P.K., Cannon, R.M., Doughty, W.J., 1997. A national serological survey to verify Australia's freedom from porcine reproductive and respiratory syndrome. *Aust. Vet. J.* 75, 596-600.
- Garner, M.G., Gleeson, L.J., Martin, R., Higgins, P., 1996. Report on the national serological survey for PRRS in Australia. Pig research and Development Corporation Project No. BRS 1/1037. Animal and Plant Health Branch, Bureau of resource Sciences, PO Box E11 Queen Victoria terrace, Parkes ACT 260.
- Giovanardi, D., Pesente, P., Sperati Ruffoni, L., DSandri, G.P., Campagnari, E., Motta, C., 2003. A testing procedure to evaluate gilt's PRRSV acclimatization. In: *Proc. Int. Symp. Emerging Re-emerging Pig. Dis.*, Rome, Italy, 121-122.
- Goldberg, T.L., Hahn, E.C., Weigel, R.M., Scherba, G., 2000a. Genetic, geographical and temporal variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Illinois. *J. Gen. Virol.* 81, 171-179.

- Goldberg, T.L., Lowe, J.F., Milburn, S.M., Firkins, L.D., 2003. Quasispecies variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during natural infection. *Virology* 317, 197-207.
- Goldberg, T.L., Weigel, R.M., Hahn, E.C., Scherba, G., 2000b. Associations between genetics, farm characteristics and clinical disease in field outbreaks of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Prev. Vet. Med.* 43, 293-302.
- Goodwin, R.F., 1985. Apparent reinfection of enzootic-pneumonia-free pig herds: search for possible causes. *Vet. Rec.* 116, 690-694.
- Gorcycya, D., Schlesinger, K., Chladek, D., Behan, W., Polson, D., Roof, M., Doitchenoff, D., 1995. RespPRRS: a new tool for prevention and control of PRRS in pigs. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Pract. Annu. Meet., Omaha, Nebraska*, 1-22.
- Goyal, S.M., 1993. Porcine reproductive and respiratory syndrome. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 656-664.
- Gradil, C., Dubuc, C., Eaglesome, M.D., 1996. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: seminal transmission. *Vet. Rec.* 138, 521-522.
- Gunn, G.J., Heffernan, C., Hall, M., McLeod, A., Hovi, M., 2008. Measuring and comparing constraints to improved biosecurity amongst GB farmers, veterinarians and the auxiliary industries. *Prev. Vet. Med.* 84, 310-323.
- Halbur, P.G., Bush, E.J., 1997. Update on abortion storms and sow mortality. *J. Swine Health Prod.* 5, 73.
- Halbur, P.G., Paul, P.S., Andrews, J.J., Sanderson, T.P., Ross, R.F., Schwartz, K.J., Frey, M.L., Erickson, B.J., Hill, H.T., Hoffman, L.J., 1993. Experimental transmission of an apparent viral pneumonia in conventional and gnotobiotic pigs. *Vet. Rec.* 132, 263-266.
- Halbur, P.G., Paul, P.S., Frey, M.L., Landgraf, J., Eernisse, K., Meng, X.J., Lum, M.A., Andrews, J.J., Rathje, J.A., 1995. Comparison of the pathogenicity of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Vet. Pathol.* 32, 648-660.
- Halbur, P.G., Paul, P.S., Meng, X.J., Lum, M.A., Rathje, J.A., 1996 (*in press*). Comparative pathogenicity of nine U.S. porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRSV) isolates in a 5 week-old cesarean-derived-colostrum-deprived pig model. *J. Vet. Diagn. Invest.*

- Hald, B., Wedderkopp, A., Madsen, M., 2000. *Thermophilic Campylobacter* spp. in Danish broiler production: a cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. *Avian Pathol.* 29, 123-131.
- Harding, A., Garbes, N., Pollard, C., Payne, B., 2011. Use of Ingelvac^R PRRS MLV on a protocol to control and eliminate NA strain of PRRS virus in two large breed to wean sites as a part of an area regional control project. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Vet. Annu. Meet.*, Phoenix, Arizona, 307.
- Hedges, S.A., 1990. *Handbook of pest control*. Franzak and Forster Co. Cleveland, OH.
- Hermann, J., Hoff, S., Munoz-Zanzi, C., Yoon, K.J., Roof, M., Burkhardt, A., Zimmerman, J., 2007. Effect of temperature and relative humidity on the stability of infectious porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols. *Vet. Res.* 38, 81-93.
- Hesse, R.A., Couture, L.P., Lau, M.L., Wasmoen, T.L., Doster, A.R., Cooper, A.R., 1997. Efficacy of Prime Pac PRRS in controlling PRRS respiratory disease: homologous and heterologous challenge. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Pract. Annu. Meet.*, Quebec, Canada, 137-144.
- Hill, H., 1990. Overview and history of Mystery Swine Disease (Swine infertility/respiratory syndrome). In: *Proc. Livestock Conservation Inst. Annu. Meet.*, Denver, Colorado, 29-31.
- Hill, H., Owen, W., Eernisse, K., Zimmerman, J., Uhlenhopp, E., Frey, M., 1992. Prevalence of SIRS in Iowa swine herds. *Am. Assoc. Swine Pract. Newsl.* 4, 47.
- Hirose, O., Kudo, H., Yoshizawa, S., Hiroike, T., Nakane, T., 1995. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Chiba prefecture. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.* 48, 650-653.
- Hoefling, D.C., 1992. Overview and history of SIRS. In: *Proc. livestock Conservation Inst. Annu. Meet.*, 239-242.
- Holck, J.T., Polson, D.D., 2003. The financial impact of PRRS virus. In: Zimmerman, J., Yoon, K.-J. (Eds.), 2003 PRRS Compendium Producer Edition. National Pork Board, Des Moines, Iowa, 46-54.
- Holtkamp, D., Polson, D., Wang, C., Melody, J., 2010a. Quantifying risk and evaluating the relationship between external biosecurity factors and PRRS-negative herd survival. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Vet. Annu. Meet.*, Omaha, Nebraska, 109-113.

- Holtkamp, D.J., Melody, J., 2010. Use of AASV Production Animal Disease Risk Assessment Program to benchmark mortality disposal practices in United States swine production. In: Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., Vancouver, Canada, 942.
- Holtkamp, D.J., Yeske, P.E., Polson, D.D., Melody, J.L., Philips, R.C., 2010b. A prospective study evaluating duration of swine breeding herd PRRS virus-free status and its relationship with measured risk. *Prev. Vet. Med.* 96, 186-193.
- Hooper, C.C., Van Alstine, W.G., Stevenson, G.W., Kanitz, C.L., 1994. Mice and rats (laboratory and feral) are not a reservoir for PRRS virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 13-15.
- Hopper, S.A., White, M.E., Twiddy, N., 1992. An outbreak of blue-eared pig disease (porcine reproductive and respiratory syndrome) in four pig herds in Great Britain. *Vet. Rec.* 131, 140-144.
- Horter, D.C., Pogranichniy, R.M., Chang, C.C., Evans, R.B., Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., 2002. Characterization of the carrier state in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet. Microbiol.* 86, 213-228.
- Houben, S., Van Reeth, K., Pensaert, M.B., 1995. Pattern of infection with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus on swine farms in Belgium. *Zentralbl Veterinarmed B* 42, 209-215.
- Hurd, H.S., Bush, E.J., Losinger, W., Corso, B., Zimmerman, J.J., Wills, R., Swenson, S., Pyburn, D., Yeske, P., Burkgren, T., 2001. Outbreaks of porcine reproductive failure: Report on a collaborative field investigation. *J. Swine Health Prod.* 9, 103-108.
- Hurnik, D., Dohoo, I.R., Bate, L.A., 1994a. Types of farm management as risk factors for swine respiratory disease. *Prev. Vet. Med.* 20, 147-157.
- Hurnik, D., Dohoo, I.R., Donald, A., Robinson, N.P., 1994b. Factor analysis of swine management practices on Prince Edward Island. *Prev. Vet. Med.* 20, 135-146.
- Iwasa, M., Makino, S., Asakura, H., Kobori, H., Morimoto, Y., 1999. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 from *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) at a cattle farm in Japan. *J. Med. Entomol.* 36, 108-112.
- Joo, H.S., Yoon, I.J., Christianson, W.T., 1992. Swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus: isolation and serologic tests. SIRS Com Mtg, Peoria: Livestock Conservation Institute. 4/23-24, 245-249.
- Keffaber, K.K., 1989. Reproductive failure of unknown etiology. *Am. Assoc. Swine Pract. Newsl.* 4, 38-39.

- Kelly, J., 2004. A scientific approach to increasing biosecurity awareness in swine production. International Society for Animal Hygiene, 341-343.
- Kim, H.K., Park, S.J., Rho, S.M., Han, J.Y., Nguyen, V.G., Park, B.K., 2011 (*in press*). One year's study of dynamic and evolution of types I and II PRRSV in a swine farm. Vet. Microbiol.
- Kim, H.S., Kwang, J., Yoon, I.J., Joo, H.S., Frey, M.L., 1993. Enhanced replication of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a homogeneous subpopulation of MA-104 cell line. Arch. Virol. 133, 477-483.
- Kim, W.I., Yoon, K.J., 2008. Molecular assessment of the role of envelope-associated structural proteins in cross neutralization among different PRRS viruses. Virus Genes 37, 380-391.
- Kimman, T.G., Cornelissen, L.A., Moormann, R.J., Rebel, J.M., Stockhofe-Zurwieden, N., 2009. Challenges for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccinology. Vaccine 27, 3704-3718.
- Kranker, S., Nielsen, J., Bille-Hansen, V., Botner, A., 1998. Experimental inoculation of swine at various stages of gestation with a Danish isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). Vet. Microbiol. 61, 21-31.
- Kristensen, C.S., Botner, A., Takai, H., Nielsen, J.P., Jorsal, S.E., 2004. Experimental airborne transmission of PRRS virus. Vet. Microbiol. 99, 197-202.
- Kweon, C.H., Kwon, B.J., Lee, H.J.e.a., 1994. Isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Korea. Korean J. Vet. Res. 34, 77-83.
- Laanen, M., Ribbens, S., Maes, D., Dewulf, J., 2010. The use of an online scoring system for the quantification of the biosecurity status in pig herds. In: Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., Vancouver, Canada, 938.
- Labarque, G., Reeth, K.V., Nauwynck, H., Drexler, C., Van Gucht, S., Pensaert, M., 2004. Impact of genetic diversity of European-type porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains on vaccine efficacy. Vaccine 22, 4183-4190.
- Labarque, G., Van Gucht, S., Nauwynck, H., Van Reeth, K., Pensaert, M., 2003a. Apoptosis in the lungs of pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and associations with the production of apoptogenic cytokines. Vet. Res. 34, 249-260.
- Labarque, G., Van Gucht, S., Van Reeth, K., Nauwynck, H., Pensaert, M., 2003b. Respiratory tract protection upon challenge of pigs vaccinated with attenuated porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines. Vet. Microbiol. 95, 187-197.

- Lager, K.M., Mengeling, W.L., 1995. Pathogenesis of in utero infection in porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 59, 187-192.
- Lager, K.M., Mengeling, W.L., Brockmeier, S.L., 1997a. Duration of homologous porcine reproductive and respiratory syndrome virus immunity in pregnant swine. *Vet. Microbiol.* 58, 127-133.
- Lager, K.M., Mengeling, W.L., Brockmeier, S.L., 1997b. Homologous challenge of porcine reproductive and respiratory syndrome virus immunity in pregnant swine. *Vet. Microbiol.* 58, 113-125.
- Lager, K.M., Mengeling, W.L., Brockmeier, S.L., 1999. Evaluation of protective immunity in gilts inoculated with the NADC-8 isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and challenge-exposed with an antigenically distinct PRRSV isolate. *Am. J. Vet. Res.* 60, 1022-1027.
- Lager, K.M., Mengeling, W.L., Wesley, R.D., 2002. Evidence for local spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 10, 167-170.
- Lamontagne, L., Page, C., Laroche, R., Magar, R., 2003. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus persistence in blood, spleen, lymph nodes, and tonsils of experimentally infected pigs depends on the level of CD8^{high} T cells. *Viral Immunol.* 16, 395-406.
- Laroche, R., D'Allaire, S., Magar, R., 2003. Molecular epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Quebec. *Virus Res.* 96, 3-14.
- Laroche, R., Magar, R., 1997. Evaluation of the presence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in packaged pig meat using virus isolation and polymerase chain reaction (PCR) method. *Vet. Microbiol.* 58, 1-8.
- Last, J.M., 2001. A dictionary of epidemiology, 4th edition. Oxford University Press, New York.
- Le Gall, A., Albina, E., Magar, R., Gauthier, J.P., 1997. Antigenic variability of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus isolates. Influence of virus passage in pig. *Vet. Res.* 28, 247-257.
- Le Gall, A., Legeay, O., Bourhy, H., Arnauld, C., Albina, E., Jestin, A., 1998. Molecular variation in the nucleoprotein gene (ORF7) of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Virus Res.* 54, 9-21.

- Le Louarn, H., Quéré, J.P., 2003. Les rongeurs de la France, faunistique et biologie. INRA Éditions Paris.
- Le Potier, M.F., Blanquefort, P., Morvan, E., Albina, E., 1997. Results of a control programme for the porcine reproductive and respiratory syndrome in the French 'Pays de la Loire' region. *Vet. Microbiol.* 55, 355-360.
- Leblanc, R., 2004. Estimation du coût de récupération des animaux morts. *Porc Québec*. Retrieved from <http://www.agrireseau.qc.ca/porc/documents/R%C3%A9cup%C3%A9ration%20animaux%20morts%20CDPQ%2004-04.pdf>, 1-6.
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. *Numerical Ecology*. Elsevier, Amsterdam.
- Leontides, L., Ewald, C., Willeberg, P., 1994. Herd risk factors for serological evidence of Aujeszky's disease virus infection of breeding sows in Northern Germany (1990-1991). *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 41, 554-560.
- Loemba, H.D., Mounir, S., Mardassi, H., Archambault, D., Dea, S., 1996. Kinetics of humoral immune response to the major structural proteins of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Arch. Virol.* 141, 751-761.
- Lopez-Fuertes, L., Campos, E., Domenech, N., Ezquerra, A., Castro, J.M., Dominguez, J., Alonso, F., 2000. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus down-modulates TNF-alpha production in infected macrophages. *Virus Res.* 69, 41-46.
- Lopez-Fuertes, L., Domenech, N., Alvarez, B., Ezquerra, A., Dominguez, J., Castro, J.M., Alonso, F., 1999. Analysis of cellular immune response in pigs recovered from porcine respiratory and reproductive syndrome infection. *Virus Res.* 64, 33-42.
- Lopez-Soria, S., Maldonado, J., Riera, P., Nofrarias, M., Espinal, A., Valero, O., Blanchard, P., Jestin, A., Casal, J., Domingo, M., Artigas, C., Segales, J., 2010. Selected swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics. *Transbound Emerg. Dis.* 57, 171-179.
- Lopez, O.J., Oliveira, M.F., Garcia, E.A., Kwon, B.J., Doster, A., Osorio, F.A., 2007. Protection against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection through passive transfer of PRRSV-neutralizing antibodies is dose dependent. *Clin. Vaccine Immunol.* 14, 269-275.
- Lu, C., Lim, K.I., Hahn, T.W., M., K.H., Han, J.H., 1999. Seroprevalence of ELISA antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Korea. *Annals of Animal Resources Science* 10, 127-137.

- Madec, F., 2001. Biosecurity on pig units : A major issue for herd health maintenance. Retrieved from http://www.cnpsa.embrapa.br/abrades-sc/pdf/Palestras2001/Francois_Madec1.pdf, 1-6.
- Magar, R., Larochelle, R., 2004. Evaluation of the presence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pig meat and experimental transmission following oral exposure. *Can. J. Vet. Res.* 68, 259-266.
- Magar, R., Robinson, Y., Dubuc, C., Larochelle, R., 1995. Isolation and experimental oral transmission in pigs of a porcine reproductive and respiratory syndrome isolate., *Adv. Exp. Med. Biol.* 380, 139-144.
- Marchevsky, N., Held, J.R., Garcia-Carrillo, C., 1989. Probability of introduction diseases because of false negative test results. *Am. J. Epidemiol.*, 611-614.
- Mardassi, H., Athanassious, R., Mounir, S., Dea, S., 1994. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: morphological, biochemical and serological characteristics of Quebec isolates associated with acute and chronic outbreaks of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Can. J. Vet. Res.* 58, 55-64.
- Mardassi, H., Massie, B., Dea, S., 1996. Intracellular synthesis, processing, and transport of proteins encoded by ORFs 5 to 7 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virology* 221, 98-112.
- Mardassi, H., Mounir, S., Dea, S., 1995. Molecular analysis of the ORFs 3 to 7 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Quebec reference strain. *Arch. Virol.* 140, 1405-1418.
- Martano, G., 2010. Evaluation of mortality rate in fattening pig herds and respective correlation on biosecurity measures. In: *Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr.*, Vancouver, Canada, 940.
- Martineau, G.P., 1997. Le syndrome dysgnésique et respiratoire porcin (SDRP). *Maladies d'élevage des porcs*. Éditions France-Agricole, 26-31.
- Mateu, E., Tello, M., Coll, A., Casal, J., Martin, M., 2006. Comparison of three ELISAs for the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Rec.* 159, 717-718.
- Mavromatis, I., Kritas, S.K., Alexopoulos, C., Tsinas, A., Kyriakis, S.C., 1999. Field evaluation of a live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in fattening pigs. *Zentralbl Veterinarmed B* 46, 603-612.

- McCaw, M., 2003. Management changes to reduce exposure to bacteria and eliminate losses (McREBEL™). In: Zimmerman, J., Yoon, K.-J. (Eds.), 2003 PRRS Compendium Producer Edition. National Pork Board, Des Moines, Iowa, 91-95.
- McCaw, M.B., 1995. McREBEL™ PRRS: Management Procedures for PRRS control in large herd nurseries. In: Proc. Allen D. Lemay Swine Conf., Minnesota, 161-162.
- McCaw, M.B., 2000. Effect of reducing cross-fostering at birth on piglet mortality and performance during an acute outbreak of porcine reproductive respiratory syndrome. *J. Swine Health Prod.* 8, 15-21.
- McQuiston, J.H., Garber, L.P., Porter-Spalding, B.A., Hahn, J.W., Pierson, F.W., Wainwright, S.H., Senne, D.A., Brignole, T.J., Akey, B.L., Holt, T.J., 2005. Evaluation of risk factors for the spread of low pathogenicity H7N2 avian influenza virus among commercial poultry farms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226, 767-772.
- Meas, D., 1997. Descriptive epidemiological aspects of seroprevalence of five respiratory disease agents in slaughter pigs from fattening herds. *Épidémiol. santé anim.* 31-32, B.19.
- Meier, W.A., Galeota, J., Osorio, F.A., Husmann, R.J., Schnitzlein, W.M., Zuckermann, F.A., 2003. Gradual development of the interferon-gamma response of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection or vaccination. *Virology* 309, 18-31.
- Meng, X.J., 2000. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Vet. Microbiol.* 74, 309-329.
- Meng, X.J., Paul, P.S., Halbur, P.G., Lum, M.A., 1995a. Phylogenetic analyses of the putative M (ORF 6) and N (ORF 7) genes of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): implication for the existence of two genotypes of PRRSV in the U.S.A. and Europe. *Arch. Virol.* 140, 745-755.
- Meng, X.J., Paul, P.S., Halbur, P.G., Morozov, I., 1995b. Sequence comparison of open reading frames 2 to 5 of low and high virulence United States isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Gen. Virol.* 76 (Pt 12), 3181-3188.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M., 2000. A brief review of procedures and potential problems associated with the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Res.* 31, 61-69.

- Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., 1998. Clinical effects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on pigs during the early postnatal interval. *Am. J. Vet. Res.* 59, 52-55.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., 2000. The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 199-210.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., Clouser, D.F., 2003a. Comparative safety and efficacy of attenuated single-strain and multi-strain vaccines for porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Microbiol.* 93, 25-38.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., Koehler, K.J., 2003b. Strain specificity of the immune response of pigs following vaccination with various strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.* 93, 13-24.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., Wesley, R.D., Couser, D.F., 1997. An update of research at the National Animal Disease Center on current field strains of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) virus. In: *Proc. Allen D. Lemman Swine Conf.*, Minnesota, 138-145.
- Mengeling, W.L., Vorwald, A.C., Lager, K.M., Brockmeier, S.L., 1996. Comparison among strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause reproductive failure. *Am. J. Vet. Res.* 57, 834-839.
- Mengeling, W.L., Vorwald, A.C., Lager, K.M., Clouser, D.F., Wesley, R.D., 1999. Identification and clinical assessment of suspected vaccine-related field strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Am. J. Vet. Res.* 60, 334-340.
- Meulenbergh, J.J., Hulst, M.M., de Meijer, E.J., Moonen, P.L., den Besten, A., de Kluiver, E.P., Wensvoort, G., Moormann, R.J., 1993. Lelystad virus, the causative agent of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS), is related to LDV and EAV. *Virology* 192, 62-72.
- Meulenbergh, J.J., Petersen-den Besten, A., De Kluiver, E.P., Moormann, R.J., Schaaper, W.M., Wensvoort, G., 1995. Characterization of proteins encoded by ORFs 2 to 7 of Lelystad virus. *Virology* 206, 155-163.
- Miller, L.C., Fox, J.M., 2004. Apoptosis and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102, 131-142.
- Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 2011a. Liste d'établissements sous permis-Atelier d'équarissage. Direction générale de la santé

- animal et de l'inspection des aliments, Retrieved from <https://web.mapaq.gouv.qc.ca/bak/ListeEtablissements/Index.cfm>, Québec.
- Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 2011b. Valorisation ou l'élimination des carcasses d'animaux morts Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), Retrieved from <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Productions/carcassesanimauxmorts/Pages/carcassesanimauxmorts.aspx>, Québec.
- Molenkamp, R., van Tol, H., Rozier, B.C., van der Meer, Y., Spaan, W.J., Snijder, E.J., 2000. The arterivirus replicase is the only viral protein required for genome replication and subgenomic mRNA transcription. *J. Gen. Virol.* 81, 2491-2496.
- Molina, R.M., Nelson, E.A., Christopher-Hennings, J., Hesse, R., Rowland, R.R., Zimmerman, J.J., 2009. Evaluation of the risk of PRRSV transmission via ingestion of muscle from persistently infected pigs. *Transbound Emerg. Dis.* 56, 1-8.
- Molitor, T.W., Bautista, E.M., Choi, C.S., 1997. Immunity to PRRSV: double-edged sword. *Vet. Microbiol.* 55, 265-276.
- Mondaca-Fernandez, E., Morrison, R.B., 2007. Applying spatial analysis to a porcine reproductive and respiratory syndrome regional control programme. *Vet. Rec.* 161, 137-138.
- Mondaca-Fernandez, E., Murtaugh, M.P., Morrison, R.B., 2006. Association between genetic sequence homology of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and geographic distance between pig sites. *Can. J. Vet. Res.* 70, 237-239.
- Moore, C., 1992. Biosecurity and minimal disease herds. In: Tubbs, R.C., Leman, A.D. (Eds.), *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* W.B. Saunders Company, Philadelphia, 461-474.
- Morozov, I., Meng, X.J., Paul, P.S., 1995. Sequence analysis of open reading frames (ORFs) 2 to 4 of a U.S. isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Arch. Virol.* 140, 1313-1319.
- Morrison, R., Wayne, S., Mondaca-Fernandez, E., 2007. Area eradication of PRRS virus. In: *Proc. George A Young Swine Health Management Conf.*, South Sioux, Nebraska, 14-17.
- Mortensen, S., Stryhn, H., Sogaard, R., Boklund, A., Stark, K.D., Christensen, J., Willeberg, P., 2002. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Prev. Vet. Med.* 53, 83-101.

- Motha, J., Stark, K., Thompson, J., 1997. New Zealand is free from PRRS, TGE, and PRCV
Surveillance 24, 10-11.
- Mousing, J., Permin, A., Mortensen, S., Botner, A., Willeberg, P., 1997. A case-control
questionnaire survey of risk factors for porcine reproductive and respiratory
syndrome (PRRS) seropositivity in Danish swine herds. *Vet. Microbiol.* 55, 323-328.
- Murakami, Y., Kato, A., Tsuda, T., Morozumi, T., Miura, Y., Sugimura, T., 1994. Isolation
and serological characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome
(PRRS) viruses from pigs with reproductive and respiratory disorders in Japan. *J. Vet.
Med. Sci.* 56, 891-894.
- Murtaugh, M.P., Elam, M.R., Kakach, L.T., 1995. Comparison of the structural protein
coding sequences of the VR-2332 and Lelystad virus strains of the PRRS virus. *Arch.
Virol.* 140, 1451-1460.
- Murtaugh, M.P., Stadejek, T., Abrahante, J.E., Lam, T.T., Leung, F.C., 2010. The ever-
expanding diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus
Res.* 154, 18-30.
- Murtaugh, M.P., Xiao, Z., Rutherford, M.S., Zuckermann, F., 2003. Immunology. In:
Zimmerman, J., Yoon, K.-J. (Eds.), 2003 PRRS Compendium Producer Edition.
National Pork Board, Des Moines, Iowa, 193-206.
- Murtaugh, M.P., Xiao, Z., Zuckermann, F., 2002. Immunological responses of swine to
porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Viral Immunol.* 15,
533-547.
- Neumann, E.J., Kliebenstein, J.B., Johnson, C.D., Mabry, J.W., Bush, E.J., Seitzinger, A.H.,
Green, A.L., Zimmerman, J.J., 2005. Assessment of the economic impact of porcine
reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J.
Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 385-392.
- Neumann, E.J., Morris, R.S., Sujau, M., 2007. Analysis of the risk of introduction and spread
of porcine reproductive and respiratory syndrome virus through importation of raw
pigmeat into New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 55, 326-336.
- Nielsen, H.S., Oleksiewicz, M.B., Forsberg, R., Stadejek, T., Botner, A., Storgaard, T., 2001.
Reversion of a live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine
investigated by parallel mutations. *J. Gen. Virol.* 82, 1263-1272.

- Nielson, C.J., Murtaugh, M.P., Faaberg, K.S., 1999. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus comparison: divergent evolution on two continents. *J. Virol.* 7, 270-280.
- Nilubol, D., Thacker, B., 2002. The introduction of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) seronegative replacements into PRRSV-seropositive herds. *Thai J. Vet. Med.* 32 (Suppl), 107-112.
- Nodelijk, G., 2002. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) with special reference to clinical aspects and diagnosis. A review. *Vet. Q.* 24, 95-100.
- Nodelijk, G., de Jong, M.C., van Leengoed, L.A., Wensvoort, G., Pol, J.M., Steverink, P.J., Verheijden, J.H., 2001. A quantitative assessment of the effectiveness of PRRSV vaccination in pigs under experimental conditions. *Vaccine* 19, 3636-3644.
- Nodelijk, G., de Jong, M.C., Van Nes, A., Vernooy, J.C., Van Leengoed, L.A., Pol, J.M., Verheijden, J.H., 2000. Introduction, persistence and fade-out of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a Dutch breeding herd: a mathematical analysis. *Epidemiol. Infect.* 124, 173-182.
- Nodelijk, G., Nielen, M., De Jong, M.C.M., Verheijden, J.H.M., 2003. A review of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Dutch breeding herds: population dynamics and clinical relevance. *Prev. Vet. Med.* 60, 37-52.
- Nodelijk, G., van Leengoed, L.A., Schoevers, E.J., Kroese, A.H., De Jong, M.C., Wensvoort, G., Verheijden, J.H., 1997. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Dutch weaning pigs. *Vet. Microbiol.* 56, 21-32.
- Okuda, Y., Kuroda, M., Ono, M., Chikata, S., Shibata, I., 2008. Efficacy of vaccination with porcine reproductive and respiratory syndrome virus following challenges with field isolates in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 70, 1017-1025.
- Opriessnig, T., Pallarés, F.J., Nilubol, D., Vincent, A.L., Thacker, E.L., Vaughn, E.M., Roof, M., Halbur, P.G., 2005. Genomic homology of ORF5 gene sequence between modified live vaccine virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge isolates is not predictive of vaccine efficacy. *J. Swine Health Prod.* 13, 246-253.
- Oslage, U., Dahle, J., Muller, T., Kramer, M., Beier, D., Liess, B., 1994. Prevalence of antibodies against the viruses of European swine fever, Aujeszky's disease and "porcine reproductive and respiratory syndrome" in wild boars in the federal states Sachsen-Anhalt and Brandenburg. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 101, 33-38.

- Osorio, F.A., Galeota, J.A., Nelson, E., Brodersen, B., Doster, A., Wills, R., Zuckermann, F., Laegreid, W.W., 2002. Passive transfer of virus-specific antibodies confers protection against reproductive failure induced by a virulent strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and establishes sterilizing immunity. *Virology* 302, 9-20.
- Ostrowski, M., Galeota, J.A., Jar, A.M., Platt, K.B., Osorio, F.A., Lopez, O.J., 2002. Identification of neutralizing and nonneutralizing epitopes in the porcine reproductive and respiratory syndrome virus GP5 ectodomain. *J. Virol.* 76, 4241-4250.
- Otake, S., Dee, S., Corzo, C., Oliveira, S., Deen, J., 2010. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet. Microbiol.* 145, 198-208.
- Otake, S., Dee, S., Rossow, K.D., Joo, H.S., Deen, J., Molitor, T.W., Pijoan, C., 2002a. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by needles. *Vet. Rec.* 150, 114-115.
- Otake, S., Dee, S.A., Jacobson, L., Torremorell, M., Pijoan, C., 2002b. Evaluation of aerosol transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus under controlled field conditions. *Vet. Rec.* 150, 804-808.
- Otake, S., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Trincado, C., Farnham, M., Pijoan, C., 2003a. Survival of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in houseflies. *Can. J. Vet. Res.* 67, 198-203.
- Otake, S., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Trincado, C., Pijoan, C., 2003b. Evaluation of mosquitoes, *Aedes vexans*, as biological vectors of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 67, 265-270.
- Otake, S., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Trincado, C., Pijoan, C., 2004. Studies on the carriage and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by individual houseflies (*Musca domestica*). *Vet. Rec.* 154, 80-85.
- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Deen, J., Molitor, T.W., Pijoan, C., 2002c. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *J. Swine Health Prod.* 10, 59-65.
- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Moon, R.D., Pijoan, C., 2001. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes (*Culicidae*). In: *Proc. Conf. Res. Workers Anim. Dis.*, 167.

- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Moon, R.D., Pijoan, C., 2002d. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes, *Aedes vexans* (Meigen). *Can. J. Vet. Res.* 66, 191-195.
- Owen, W.J., Uhlenhopp, E.K., Hill, H.T., Frey, M.L., Eernisse, K.A., Zimmerman, J., 1992. Preliminary analysis of the Iowa NAHMS swine serum bank. SIRS Com Mtg, Peoria: Livestock Conservation Institute. 4/23-24, 243-244.
- Parker, R.R., 1916. Dispersion of *Musca domestica Linnaeus* under city conditions in Montana. *J. Econ. Entomol.* 9, 325-352.
- Pejsak, Z., Markowska-Daniel, I., 1996. Viruses as a reason for reproductive failure in pig herds in Poland. *Reproduction in Domestic Animals* 31, 445-447.
- Pejsak, Z., Markowska-Daniel, I., 1997. Losses due to porcine reproductive and respiratory syndrome in a large swine farm. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 20, 345-352.
- Pejsak, Z., Stadejek, T., Markowska-Daniel, I., 1997. Clinical signs and economic losses caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large breeding farm. *Vet. Microbiol.* 55, 317-322.
- Perfumo, C.J., Sanguinetti, H.R., 2003. Argentina: serological studies on PRRS virus. In: Zimmerman, J., Yoon, K.-J. (Eds.), 2003 PRRS Compendium Producer Edition. National Pork Board, Des Moines, Iowa, 209-210.
- Pesente, P., Rebonato, V., Sandri, G., Giovanardi, D., Ruffoni, L.S., Torriani, S., 2006. Phylogenetic analysis of ORF5 and ORF7 sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) from PRRS-positive Italian farms: a showcase for PRRSV epidemiology and its consequences on farm management. *Vet. Microbiol.* 114, 214-224.
- Pimentel, D., Lach, L., Zuniga, R., Marrison, D., 1999. Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. Cornell University, College of Agriculture and Life Sciences. Ithaca, New York, USA.
- Pinto, C.J., Urcelay, V.S., 2003. Biosecurity practices on intensive pig production systems in Chile. *Prev. Vet. Med.* 59, 139-145.
- Pirtle, E.C., Beran, G.W., 1996. Stability of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the presence of fomites commonly found on farms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208, 390-392.

- Pitkin, A., Deen, J., Dee, S., 2009a. Further assessment of fomites and personnel as vehicles for mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 73, 298-302.
- Pitkin, A., Deen, J., Dee, S., 2009b. Use of a production region model to assess the airborne spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.* 136, 1-7.
- Pitkin, A., Deen, J., Otake, S., Moon, R., Dee, S., 2009c. Further assessment of houseflies (*Musca domestica*) as vectors for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus under field conditions. *Can. J. Vet. Res.* 73, 91-96.
- Pitkin, A., Otake, S., Dee, S., 2009d. Biosecurity protocols for the prevention of spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Swine Disease Eradication Center, University of Minnesota, College of Veterinary Medicine, Minnesota, 1-17.
- Pitkin, A., Otake, S., Dee, S., 2010. The role of people and fomites in the spread of swine pathogens: Observations from a 4-year project. In: Proc. Allen D. Leman Swine Conf.: Carlos Pijoan Symposium on Disease Eradication: The impact of People on Health Programs, St. Paul, Minnesota.
- Plagemann, P.G., Moennig, V., 1992. Lactate dehydrogenase-elevating virus, equine arteritis virus, and simian hemorrhagic fever virus: a new group of positive-strand RNA viruses. *Adv. Virus Res.* 41, 99-192.
- Plana Duran, J., Vayreda, M., Vilarrasa, J., Bastons, M., Rosell, R., Martinez, M., San Gabriel, A., Pujols, J., Badiola, J.L., Ramos, J.A., et al., 1992. Porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease). Isolation in Spain of the causative agent and experimental reproduction of the disease. *Vet. Microbiol.* 33, 203-211.
- Pol, J.M., van Dijk, J.E., Wensvoort, G., Terpstra, C., 1991. Pathological, ultrastructural, and immunohistochemical changes caused by Lelystad virus in experimentally induced infections of mystery swine disease (synonym: porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS)). *Vet. Q.* 13, 137-143.
- Polson, D., Hartsook, G., Dion, K., 2010. McREBEL as a key component for the successful elimination of PRRS virus from very large swine breeding herds. In: Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., Vancouver, Canada, 267.

- Polson, D.D., Marsh, W.E., Dial, G.D., Christianson, W.T., 1992. Financial impact of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS). In: Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., The Hague, The Netherlands, 132.
- Prickett, J., Simer, R., Christopher-Hennings, J., Yoon, K.J., Evans, R.B., Zimmerman, J.J., 2008. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid samples: a longitudinal study under experimental conditions. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20, 156-163.
- Prieto, C., Suarez, P., Simarro, I., Garcia, C., Martin-Rillo, S., Castro, J.M., 1997. Insemination of susceptible and preimmunized gilts with boar semen containing porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 47, 647-654.
- Prieto, C., Vazquez, A., Nunez, J.I., Alvarez, E., Simarro, I., Castro, J.M., 2009. Influence of time on the genetic heterogeneity of Spanish porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates. *Vet. J.* 180, 363-370.
- Rajic, A., Dewey, C.E., Deckert, A.E., Friendship, R.M., S.W., M., Yoo, D., 2001. Production of PRRSV-negative pigs commingled from multiple, vaccinated, serologically stable, PRRSV-positive breeding herds. *J. Swine Health Prod.* 9, 179-184.
- Reicks, D.L., 2009. Application of air filtration systems in swine operations. In: Proc. Banff pork seminar: Advances in pork production, Banff, Alberta, 163-171.
- Ribbens, S., Dewulf, J., Koenen, F., Mintiens, K., de Kruif, A., Maes, D., 2009. Type and frequency of contacts between Belgian pig herds. *Prev. Vet. Med.* 88, 57-66.
- Ribbens, S., Dewulf, J., Koenen, F., Mintiens, K., De Sadeleer, L., de Kruif, A., Maes, D., 2008. A survey on biosecurity and management practices in Belgian pig herds. *Prev. Vet. Med.* 83, 228-241.
- Robertson, I.B., 1992. Transmission of blue-eared pig disease. *Vet. Rec.* 130, 478.
- Ropp, S.L., Wees, C.E., Fang, Y., Nelson, E.A., Rossow, K.D., Bien, M., Arndt, B., Preszler, S., Steen, P., Christopher-Hennings, J., Collins, J.E., Benfield, D.A., Faaberg, K.S., 2004. Characterization of emerging European-like porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates in the United States. *J. Virol.* 78, 3684-3703.
- Rose, N., Madec, F., 2002. Occurrence of respiratory disease outbreaks in fattening pigs: relation with the features of a densely and a sparsely populated pig area in France. *Vet. Res.* 33, 179-190.
- Rosendal, T., Dewey, C.E., Friendship, R.M., Wootton, S.K., Beth, Y., Poljak, Z., 2010. Association between genetic similarity of the PRRSV ORF5 sequence and the

- similarity in clinical signs of PRRS in Ontario swine herds. In: Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., Vancouver, Canada, 191.
- Rossow, K.D., Bautista, E.M., Goyal, S.M., Molitor, T.W., Murtaugh, M.P., Morrison, R.B., Benfield, D.A., Collins, J.E., 1994. Experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in one-, four-, and 10-week-old pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 3-12.
- Rossow, K.D., Benfield, D.A., Goyal, S.M., Nelson, E.A., Christopher-Hennings, J., Collins, J.E., 1996a. Chronological immunohistochemical detection and localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in gnotobiotic pigs. *Vet. Pathol.* 33, 551-556.
- Rossow, K.D., Collins, J.E., Goyal, S.M., Nelson, E.A., Christopher-Hennings, J., Benfield, D.A., 1995. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Vet. Pathol.* 32, 361-373.
- Rossow, K.D., Laube, K.L., Goyal, S.M., Collins, J.E., 1996b. Fetal microscopic lesions in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced abortion. *Vet. Pathol.* 33, 95-99.
- Rowland, R.R., Robinson, B., Stefanick, J., Kim, T.S., Guanghua, L., Lawson, S.R., Benfield, D.A., 2001. Inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by interferon-gamma and recovery of virus replication with 2-aminopurine. *Arch. Virol.* 146, 539-555.
- Rowland, R.R., Steffen, M., Ackerman, T., Benfield, D.A., 1999. The evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: quasispecies and emergence of a virus subpopulation during infection of pigs with VR-2332. *Virology* 259, 262-266.
- Saliki, J.T., Rodgers, S.J., Eskew, G., 1998. Serosurvey of selected viral and bacterial diseases in wild swine from Oklahoma. *J. Wildl. Dis.* 34, 834-838.
- Schaefer, N., Morrison, R., 2007. Effect on total pigs weaned of herd closure for elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 15, 152-155.
- Schurrer, J.A., Dee, S.A., Moon, R.D., Deen, J., C., P., 2006. Evaluation of three strategies for insect control on a commercial farm. *J. Swine Health Prod.* 14, 76-81.
- Schurrer, J.A., Dee, S.A., Moon, R.D., Murtaugh, M.P., Finnegan, C.P., Deen, J., Kleiboeker, S.B., Pijoan, C.B., 2005. Retention of ingested porcine reproductive and respiratory syndrome virus in houseflies. *Am. J. Vet. Res.* 66, 1517-1525.

- Schurrer, J.A., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Mahlum, C., Mondaca, E., Otake, S., Fano, E., Collins, J.E., Pijoan, C., 2004. Spatial dispersal of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-contaminated flies after contact with experimentally infected pigs. *Am. J. Vet. Res.* 65, 1284-1292.
- Scotti, M., Prieto, C., Alvarez, E., Simarro, I., Castro, J.M., 2007. Failure of an inactivated vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome to protect gilts against a heterologous challenge with PRRSV. *Vet. Rec.* 161, 809-813.
- Sellers, R.F., Donaldson, A.I., Herniman, K.A., 1970. Inhalation, persistence and dispersal of foot-and-mouth disease virus by man. *J. Hyg. (Lond)* 68, 565-573.
- Shi, M., Lam, T.T., Hon, C.C., Murtaugh, M.P., Davies, P.R., Hui, R.K., Li, J., Wong, L.T., Yip, C.W., Jiang, J.W., Leung, F.C., 2010. Phylogeny-based evolutionary, demographical, and geographical dissection of North American type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *J. Virol.* 84, 8700-8711.
- Shibata, I., Mori, M., Yazawa, S., 2000. Experimental reinfection with homologous porcine reproductive and respiratory syndrome virus in SPF pigs. *J. Vet. Med. Sci.* 62, 105-108.
- Snidjer, E.J., Meulenber, J.M., 2001. Arteriviruses. In: D.M., K., Howley, P.M., Griffin, D.E., Lamb, R.A., Martin, M.A., Roizman, B., S.E., S. (Eds.), *Fields Virology*, 4th edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 1205-1220.
- Stärk, K.D., 1999. The role of infectious aerosols in disease transmission in pigs. *Vet. J.* 158, 164-181.
- Stärk, K.D.C., 2000. Epidemiological investigation of the influence of environmental risk factors on respiratory diseases in swine - A literature review. *Vet. J.*, 37-56.
- Stärk, K.D.C., Keller, H., Eggenberger, E., 1992. Risk factors for the reinfection of specific pathogen-free pig breeding herds with enzootic pneumonia. *Vet. Rec.* 131, 532-535.
- Stevenson, G.W., Van Alstine, W.G., Kanitz, C.L., Keffaber, K.K., 1993a. Endemic porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of nursery pigs in two swine herds without current reproductive failure. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 432-434.
- Stevenson, G.W., Van Alstine, W.G., Kanitz, C.L., Keffaber, K.K., 1993b. Endemic porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of nursery pigs in two swine herds without current reproductive failure. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 432-434.

- Suarez, P., Diaz-Guerra, M., Prieto, C., Esteban, M., Castro, J.M., Nieto, A., Ortin, J., 1996. Open reading frame 5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus as a cause of virus-induced apoptosis. *J. Virol.* 70, 2876-2882.
- Surprenant, C., 2010. Vivre avec le SRRP, peut-on encore se le permettre? In: *Le Rendez-vous porcin AQUINAC*, Drummondville, Québec, 25-33.
- Swenson, S.L., Hill, H.T., Zimmerman, J.J., Evans, L.E., Landgraf, J.G., Wills, R.W., Sanderson, T.P., McGinley, M.J., Brevik, A.K., Ciszewski, D.K., et al., 1994. Excretion of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen after experimentally induced infection in boars. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204, 1943-1948.
- Terpstra, C., Wensvoort, G., Pol, J.M., 1991a. Experimental reproduction of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease) by infection with Lelystad virus: Koch's postulates fulfilled. *Vet. Q.* 13, 131-136.
- Terpstra, C., Wensvoort, G., Ter Laak, E.A., 1991b. The "new" pig disease: laboratory investigations In: *The new pig disease. Porcine reproductive and respiratory syndrome. A report on the seminar/workshop held in Brussels on 29-30 April 1991 and organized by the European Commission Directorate General for Agriculture*, 36-45.
- Thanawongnuwech, R., Halbur, P.G., Thacker, E.L., 2000. The role of pulmonary intravascular macrophages in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Anim. Health Res. Rev.* 1, 95-102.
- Thanawongnuwech, R., Thacker, E.L., Halbur, P.G., 1997. Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) (isolate ATCC VR-2385) infection on bactericidal activity of porcine pulmonary intravascular macrophages (PIMs): in vitro comparisons with pulmonary alveolar macrophages (PAMs). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 59, 323-335.
- Thanawongnuwech, R., Thacker, E.L., Halbur, P.G., 1998. Influence of pig age on virus titer and bactericidal activity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-infected pulmonary intravascular macrophages (PIMs). *Vet. Microbiol.* 63, 177-187.
- Thanawongnuwech, R., Young, T.F., Thacker, B.J., Thacker, E.L., 2001. Differential production of proinflammatory cytokines: in vitro PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* co-infection model. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 79, 115-127.

- Torremorell, M., Henry, S., Christianson, W.T., 2003. Eradication using herd closure. In: Zimmerman, J., Yoon, K.-J. (Eds.), 2003 PRRS Compendium Producer Edition. National Pork Board, Des Moines, Iowa, 111-115.
- Torremorell, M., Pijoan, C., Janni, K., Walker, R., Joo, H.S., 1997. Airborne transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in nursery pigs. *Am. J. Vet. Res.* 58, 828-832.
- Trincado, C., Dee, S., Jacobson, L., Otake, S., Rossow, K., Pijoan, C., 2004a. Attempts to transmit porcine reproductive and respiratory syndrome virus by aerosols under controlled field conditions. *Vet. Rec.* 154, 294-297.
- Trincado, C., Dee, S., Rossow, K., Halvorson, D., Pijoan, C., 2004b. Evaluation of the role of mallard ducks as vectors of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Rec.* 154, 233-237.
- United States Department of Agriculture, 2005. Swine 2000: Part IV: Changes in the U.S. Pork Industry, 1999-2000. United States Department of Agriculture (USDA), Retrieved from http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/swine/downloads/swine2000/Swine2000_dr_PartIV.pdf.
- Urizar, L., Klopfenstein, C., 2010. Portrait de la biosécurité d'un secteur de la région de la Beauce, Québec, effectué avec l'outil PADRAP. Rapport final. Centre de développement du porc du Québec inc, Retrieved from <http://www.cdpqinc.qc.ca/document%5CPADRAP%20Rapport%20Final.pdf>, Québec, 1-114.
- Valicek, L., Psikal, I., Smid, B., Indik, S., Rodak, L., Kosinova, E., 1999. Circulation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine herds in the czech republic. *Vet. Med.-Czech* 44, 289-294.
- Van Alstine, W.G., Kanitz, C.L., Stevenson, G.W., 1993. Time and temperature survivability of PRRS virus in serum and tissues. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 621-622.
- van der Linden, I.F., van der Linde-Bril, E.M., Voermans, J.J., van Rijn, P.A., Pol, J.M., Martin, R., Steverink, P.J., 2003. Oral transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by muscle of experimentally infected pigs. *Vet. Microbiol.* 97, 45-54.
- Van Nieuwstadt, A.P., Meulenberg, J.J.M., Van Essen-Zandbergen, A., Den Besten, A.P., Bende, R.J., Moormann, R.J., Wensvoort, G., 1996. Proteins encoded by open reading

- frames 3 and 4 of the genome of Lelystad virus (Arteriviridae) are structural proteins of the virion. *J. Virol.* 70, 4767-4772.
- van Reeth, K., Nauwynck, H., 2000. Proinflammatory cytokines and viral respiratory disease in pigs. *Vet. Res.* 31, 187-213.
- Van Steenwinkel, S., Ribbens, S., Ducheyne, E., Goossens, E., Dewulf, J., 2011. Assessing biosecurity practices, movements and densities of poultry sites across Belgium, resulting in different farm risk-groups for infectious disease introduction and spread. *Prev. Vet. Med.* 98, 259-270.
- van Vugt, J.J., Storgaard, T., Oleksiewicz, M.B., Botner, A., 2001. High frequency RNA recombination in porcine reproductive and respiratory syndrome virus occurs preferentially between parental sequences with high similarity. *J. Gen. Virol.* 82, 2615-2620.
- Vashisht, K., Erlandson, K.R., Firkins, L.D., Zuckermann, F.A., Goldberg, T.L., 2008. Evaluation of contact exposure as a method for acclimatizing growing pigs to porcine reproductive and respiratory syndrome. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 232, 1530-1535.
- Vezina, S.A., Loemba, H., Fournier, M., Dea, S., Archambault, D., 1996. Antibody production and blastogenic response in pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 60, 94-99.
- Vieira, A.R., Hofacre, C.L., Smith, J.A., Cole, D., 2009. Human contacts and potential pathways of disease introduction on Georgia poultry farms. *Avian Dis.* 53, 55-62.
- Waddell, J., 2010. PRRS area regional control and elimination: Why is Nebraska a good place to start? In: *Proc. George A Young Swine Health Management Conf.*, South Sioux, Nebraska, 54-59.
- Wagstrom, E.A., Chang, C.C., Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., 1998. Excretion of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in milk and colostrum. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Pract. Annu. Meet.*, 405-406.
- Wang, F.I., 1999. Minimal residues of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pig carcasses and boar semen. In: *Proc Natl Sci Counc Repub China B* 23, 167-174.
- Weigel, R.M., Firkins, L.D., Scherba, G., 2000. Prevalence and risk factors for infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in swine herds in Illinois (USA). *Vet. Res.* 31, 87-88.

- Wensvoort, G., Terpstra, C., Pol, J.M., ter Laak, E.A., Bloemraad, M., de Kluyver, E.P., Kragten, C., van Buiten, L., den Besten, A., Wagenaar, F., et al., 1991. Mystery swine disease in The Netherlands: the isolation of Lelystad virus. *Vet. Q.* 13, 121-130.
- Wesley, R.D., Mengeling, W.L., Lager, K.M., Clouser, D.F., Landgraf, J.G., Frey, M.L., 1998. Differentiation of a porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine strain from North American field strains by restriction fragment length polymorphism analysis of ORF 5. *J. Vet. Diagn. Invest.* 10, 140-144.
- Wesley, R.D., Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., Roof, M.B., 1999. Evidence for divergence of restriction fragment length polymorphism patterns following in vivo replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Am. J. Vet. Res.* 60, 463-467.
- White, M., 1991. Blue ear disease of pigs. *Vet. Rec.* 128, 574.
- Wikipédia, 2003. Wikipédia L'encyclopédie libre. Retrieved from http://fr.wikipedia.org/wiki/Wikip%C3%A9dia:Accueil_principal.
- Willeberg, P., Gardner, I.A., Mortensen, S., Mousing, J., 1994. Models of herd-size effects in swine diseases. *Kenya Veterinarian*, 189-191.
- Wills, R.W., Doster, A.R., Galeota, J.A., Sur, J.H., Osorio, F.A., 2003. Duration of infection and proportion of pigs persistently infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Clin. Microbiol.* 41, 58-62.
- Wills, R.W., Doster, A.R., Osorio, F.A., 2002. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) to age-matched sentinel pigs. *J. Swine Health Prod.* 10, 161-165.
- Wills, R.W., Osorio, F.A., Doster, A.R., 2000. Susceptibility of selected non-swine species to infection with PRRS virus. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Pract. Annu. Meet.*, 411-413.
- Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Swenson, S.L., Yoon, K.-J., Hill, H.T., Bundy, D.S., McGinley, M.J., 1997a. Transmission of PRRSV by direct, close, or indirect contact. *J. Swine Health Prod.* 5, 213-218.
- Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Swenson, S.L., Hoffman, L.J., McGinley, M.J., Hill, H.T., Platt, K.B., 1997b. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: routes of excretion. *Vet. Microbiol.* 57, 69-81.

- Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Swenson, S.L., McGinley, M.J., Hill, H.T., Platt, K.B., Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., 1997c. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a persistent infection. *Vet. Microbiol.* 55, 231-240.
- Wissink, E.H., Kroese, M.V., van Wijk, H.A., Rijsewijk, F.A., Meulenbergh, J.J., Rottier, P.J., 2005. Envelope protein requirements for the assembly of infectious virions of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol.* 79, 12495-12506.
- World Organisation for Animal Health, 1996. World Animal Health in 1995. Part 1. Reports on the Animal Health Status and Disease Control Methods and List A Disease Outbreaks-Statistics. World Organisation for Animal Health, 211.
- World Organisation for Animal Health, 1997. World Animal Health in 1996. Part 1. Reports on the Animal Health Status and Disease Control Methods and List A Disease Outbreaks-Statistics. World Organisation for Animal Health, 249.
- World Organisation for Animal Health, 2005. Report on the animal disease status world-wide in 2004 and the beginning of 2005. World Organisation for Animal Health, 49-56.
- World Organisation for Animal Health, 2010. Terrestrial Animal Health Code-Article 4.3.1. World Organisation for Animal Health, Retrieved from http://web.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_1.4.3.htm.
- Wurtz, R., Moye, G., Jovanovic, B., 1994. Handwashing machines, handwashing compliance, and potential for cross-contamination. *Am. J. Infect. Control* 22, 228-230.
- Yaeger, M.J., Prieve, T., Collins, J., Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Benfield, D., 1993. Evidence for the transmission of porcine reproduction and respiratory syndrome (PRRS) virus in boar semen. *J. Swine Health Prod.* 1, 7-9.
- Yeske, P., 2010. Cost of eradicating diseases according to method. In: Proc. Am. Assoc. Swine Vet. Annu. Meet., Omaha, Nebraska, 15-18.
- Yoo, D., Welch, S.K., Lee, C., Calvert, J.G., 2004. Infectious cDNA clones of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and their potential as vaccine vectors. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102, 143-154.
- Yoon, K.J., Hoo, H.S., Christianson, W.T., Morrison, R.B., Dial, G.D., 1993. Persistent and contact infection in nursery pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J. Swine Health Prod.* 4, 5-8.

- Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., Chang, C.C., Cancel Tirado, S., Harmon, K.M., McGinley, M.J., 1999. Effect of challenge dose and route on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in young swine. *Vet. Res.* 30, 629-638.
- Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., Swenson, S.L., McGinley, M.J., Eernisse, K.A., Brevik, A., Rhinehart, L.L., Frey, M.L., Hill, H.T., Platt, K.B., 1995. Characterization of the humoral immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7, 305-312.
- Yoshii, M., Kaku, Y., Murakami, Y., Shimizu, M., Kato, K., Ikeda, H., 2005. Genetic variation and geographic distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan. *Arch. Virol.* 150, 2313-2324.
- Yuan, S., Nelsen, C.J., Murtaugh, M.P., Schmitt, B.J., Faaberg, K.S., 1999. Recombination between North American strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus *Virus Res.* 61, 87-98.
- Zeman, D., Neiger, R., Yaeger, M., Nelson, E., Benfield, D., Leslie-Steen, P., Thomson, J., Miskimins, D., Daly, R., Minehart, M., 1993. Laboratory investigation of PRRS virus infection in three swine herds. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 522-528.
- Zimmerman, J., 2003. Historical Overview of PRRS Virus. In: Zimmerman, J., Yoon, K.-J. (Eds.), 2003 PRRS Compendium Producer Edition. National Pork Board, Des Moines, Iowa, 2-7.
- Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., 2003. 2003 PRRS Compendium Producer Edition. National Pork Board Des Moines, Iowa.
- Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Pirtle, E.C., Wills, R.W., Sanderson, T.J., McGinley, M.J., 1997a. Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species. *Vet. Microbiol.* 55, 329-336.
- Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Wills, R.W., Swenson, S.L., 1997b. General overview of PRRSV: a perspective from the United States. *Vet. Microbiol.* 55, 187-196.
- Zupancic, Z., Jukic, B., Lojkic, M., Cac, Z., Jemersic, L., Staresina, V., 2002. Prevalence of antibodies to classical swine fever, Aujeszky's disease, porcine reproductive and respiratory syndrome, and bovine viral diarrhoea viruses in wild boars in Croatia. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 49, 253-256.

Appendices

Questionnaires

Partie 1-Caractéristiques générales du site et mesures de biosécurité

NO DE CAS :

DATE DE SOUMISSION (jour/mois/année) :

DATE D'ÉCHANTILLONNAGE :

DATE DE VISITE :

COORDONNÉES GÉOGRAPHIQUES :

Latitude :

Longitude:

_____/_____/_____
_____/_____/_____
_____/_____/_____

IDENTIFICATION DE LA FERME

Nom de la ferme : _____

Propriétaire : _____

Adresse : _____

Vétérinaire traitant : _____

Affilié au réseau : _____

TYPE DE PRODUCTION SUR LE SITE (MPEQCA) : _____

Maternité

Pouponnière

Engraissement

Quarantaine

Cochetterie

Autre : _____

STATUT DU SITE SELON LE PRODUCTEUR

1. SRRP négatif

2. SRRP négatif vacciné

3. SRRP positif sans signe clinique

4. SRRP positif avec signes cliniques

5. Indéterminé

INFORMATION SUR L'ÉCHANTILLON PRÉLEVÉ

Bâtiment(s) échantillonné(s) : _____

Nombre d'échantillons : _____

Type d'échantillon : _____

Âge des animaux échantillonnés : _____

Animaux vaccinés ? 0. Non

Si oui ; Depuis quand ? _____ semaines

Avec quel vaccin ? 1. Ingelvac PRRS MLV

2. Ingelvac PRRS ATP

3. Reprocyc PRRS-PLE

INFORMATION SUR LA FERME

1. Nombre de bâtiments pour chaque stade sur le site:	Nb de bâtiments/site				
1. Maternité		_____			
2. Maternité et pouponnière		_____			
3. Maternité, pouponnière et engraissement (bâtiment en H)		_____			
4. Pouponnière		_____			
5. Engraissement commercial		_____			
6. Engraissement à cochettes		_____			
7. Pouponnière et engraissement		_____			
8. Quarantaine		_____			
2. Taille du troupeau	/Bâtiment	/site			
<i>(Répondre aux énoncés applicables)</i>					
Nombre de truies en inventaire	_____	_____			
Nombre de porcelets en pouponnière	_____	_____			
Nombre d'animaux en engraissement commercial	_____	_____			
Nombre d'animaux en engraissement à cochettes	_____	_____			
Nombre moyen d'animaux en cochetterie	_____	_____			
Nombre moyen d'animaux en quarantaine	_____	_____			
3. Roulement de l'élevage	Mise bas	Poup. Engrais.			
<i>(Répondre aux énoncés applicables)</i>					
1. Bâtiment en tout plein tout vide (TP/TV)	_____	_____			
2. Bâtiment pas complètement en TP/TV	_____	_____			
3. Chambre en TP/TV	_____	_____			
4. Chambre pas complètement en TP/TV	_____	_____			
5. Continu	_____	_____			
4. Programme actuel de vaccination pour le SRRP					
	Maternité	Pouponnière	Engraissement		
	Cochettes	Animaux	Porcelets		
		Reproducteurs	sous la mère		
		Adultes			
1. Aucun	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. MLV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. ATP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Reprocyc	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Protocole de vaccination actuel :

Dose : _____

Moment : _____

Autre : _____

5. Avez-vous déjà utilisé d'autres vaccins commerciaux pour le SRRP dans le passé ?

0. Non _____
1. Oui _____ Le ou lesquels ? _____
 Date de la dernière utilisation _____
 Groupe d'animaux _____
2. Indéterminé

6. Actuellement, quel type de production est le plus affecté par le SRRP (donner le numéro du bâtiment si applicable) ?

0. Aucun
1. Maternité _____
2. Pouponnière _____
3. Engraissement commercial _____
4. Engraissement à cochettes _____
5. Cochetterie _____
6. Quarantaine _____

7. Présentation des signes cliniques dans ce dernier type de production (bâtiment si applicable).

0. Aucun signe clinique
1. Signes cliniques persistants (en continu) au cours de la dernière année
2. Signes cliniques survenant sous la forme de crise (épisode)
 Si oui,
 Date de début du présent épisode (mois/année) : _____/_____
 Date du début de l'épisode précédent (s'il y a lieu) : _____/_____

8. Avez-vous utilisé des tests diagnostiques pour confirmer le statut de ce bâtiment ?

0. Non _____
- Oui _____ Si oui, le ou lesquels ?
1. ELISA (séroconversion)
2. PCR
3. Séquençage Quand ? (jour/mois/année) : _____/_____/_____
 À quel laboratoire ? _____
 Pouvons-nous y avoir accès ?:
 0. Non _____
 1. Oui _____ No de soumission : _____
4. Autre(s), lequel(s) _____

Si aucun type de production ne démontre de signes cliniques et qu'il est certifié négatif par des tests diagnostics, poursuivez à la question 18 de la section biosécurité. Remplissez également la section acclimatation si votre élevage comprend une maternité. Toutefois, veuillez nous communiquer tout changement de statut sanitaire le plus rapidement possible.

MATERNITÉ

Répondez aux questions 9 à 12 que si la majorité de vos problèmes liés au SRRP survient dans la maternité.

9. Quels sont le ou les signe(s) clinique(s) relié (s) au SRRP observé(s) chez les animaux reproducteurs (truie/ verroat) ?

0. Aucun
1. Séroconversion seulement
2. Plus de 5% d'avortements ou mise-bas prématurées sur deux semaines
3. Portée avec porcelets faibles, mort-nés et momifiés
4. Mortalité de truies (> 2% de l'inventaire sur deux semaines)
5. Autres, précisez _____

10. Quels sont le ou les signe(s) clinique(s) relié (s) au SRRP observé(s) chez les porcelets sous la mère.

0. Aucun
1. Problèmes respiratoires (dyspnée, toux)
2. Diarrhée
3. Mortalité pré-sevrage élevée
4. Autres, précisez _____

11. Veuillez compléter le questionnaire portant exclusivement sur l'acclimatation des animaux de remplacement.

12. Veuillez compléter la dernière section du document portant sur la biosécurité (questions 18 à 28).

POUPONNIÈRE ET/OU ENGRAISSEMENT

Répondez aux questions 13 à 17 que si la majorité de vos problèmes de SRRP survient en pouponnière *ou* en engraissement.

13. Quels sont le ou les signe(s) clinique(s) observé(s) chez les porcelets en pouponnière ou les porcs à l'engrais.

0. Aucun
1. Séroconversion seulement
2. Problèmes respiratoires (dyspnée, toux)
3. Anémie
4. Dépérissement
5. Autres, précisez _____

14. À quel âge débutent les signes cliniques? _____ (semaines d'âge)

15. Age moyen à l'entrée

1. En pouponnière : _____ (jours)
2. En engraissement : _____ (semaines)

16. Source des porcelets ou des porcs à l'engrais

0. Troupeau fermé (Ex : naisseur-finisseeur sur un seul site)
 1. Une seule source (Ex : naisseur-finisseeur sur plusieurs sites)
La nommer _____
 2. Deux sources (Ex : engraissement qui s'approvisionne d'une pouponnière multi-source),
Les nommer _____
 3. Trois sources, les nommer _____
 4. Plus de trois sources, les nommer _____
- * A. Cochettes de 5 kilos négatives au SRRP

17. Les porcelets ou les porcs à l'engrais proviennent d'un troupeau SRRP

0. Négatif
1. Négatif-vacciné
2. Positif
3. Indéterminé

Appel à tous!!, veuillez répondre aux questions 18 à 28 portant sur la biosécurité.
Indiquez P (partiel) si l'énoncé est applicable à un certain nombre de bâtiments sur le site,
mais pas à la totalité des bâtiments.

18. L'aménagement du site de production

	OUI (1)	NON (2)	N/A (3)	P(4)
Panneaux indiquant l'interdiction d'entrer dans les bâtiments	_____	_____	_____	_____
Portes fermées à clé en tout temps pour tous les bâtiments	_____	_____	_____	_____
Sonnette à l'entrée de chaque bâtiment	_____	_____	_____	_____
Barrière à l'entrée du site qui est fermée en tout temps	_____	_____	_____	_____
Aucun véhicule ne peut avoir accès à moins de 30 mètres des entrées du bâtiment	_____	_____	_____	_____
Périmètre de la ferme clôturé	_____	_____	_____	_____
Route publique à moins de 300 mètres	_____	_____	_____	_____

19. Contrôle des intrants

	OUI (1)	NON (2)	N/A (3)	P(4)
Les livreurs d'aliments peuvent entrer dans les bâtiments	_____	_____	_____	_____
Nommer fournisseur d'aliments _____				
La semence est livrée à l'intérieur d'un bâtiment où il y a des porcs	_____	_____	_____	_____
Centre d'insémination certifié négatif au SRRP	_____	_____	_____	_____
Nommer le ou les centre(s) ou mentionner si saillie naturelle seulement _____				

20. Gestion des animaux morts

	OUI (1)	NON (2)	N/A (3)	P(4)
Un bac de récupération entrepose les animaux morts	_____	_____	_____	_____
Un congélateur entrepose les animaux morts	_____	_____	_____	_____
Un incinérateur est utilisé pour les animaux morts	_____	_____	_____	_____
L'enfouissement est utilisé pour disposer des animaux morts	_____	_____	_____	_____
Le compostage est utilisé pour disposer des animaux morts	_____	_____	_____	_____
Autre système de gestion des animaux morts	_____	_____	_____	_____
Une fois dans le système d'entreposage, des chiens, chats ou animaux sauvages ont accès aux carcasses	_____	_____	_____	_____
L'équarisseur entre sur le site pour récupérer les carcasses	_____	_____	_____	_____
Le transport des animaux morts est effectué en fin de journée	_____	_____	_____	_____

21. Transport des animaux

Indiquez le nom du transporteur commercial ou si le transport est effectué par leurs propres camions
Le transport des cochettes est assuré par : _____
Le transport des porcelets (entrant): _____
Le transport des porcelets (sortant) : _____
Le transport des porcs à l'engrais (entrant): _____
Le transport des porcs à l'engrais (sortant): _____
Le transport des truies de réforme: _____

	OUI (1)	NON (2)	N/A (3)	P(4)
Au moins un des camions servant au transport des animaux va sur d'autres fermes porcines.	_____	_____	_____	_____
Si oui, Le camion est-il lavé entre chaque groupe d'animaux?	_____	_____	_____	_____
Durant le transfert, des animaux ayant eu accès au camion peuvent revenir dans l'élevage.	_____	_____	_____	_____
Il y a une chambre d'expédition.	_____	_____	_____	_____
Le transporteur d'animaux a accès à la porcherie.	_____	_____	_____	_____

22. Gestion du personnel et des visiteurs

OUI (1) NON (2) N/A (3) P(4)

Lavage des mains obligatoire (avec savon) à l'entrée	_____	_____	_____	_____
Bottes différentes pour chaque bâtiment	_____	_____	_____	_____
Salopettes différentes pour chaque bâtiment	_____	_____	_____	_____
Entrée danoise (Séparation entre aire contaminée et propre)	_____	_____	_____	_____
Douches à l'entrée pour chaque bâtiment	_____	_____	_____	_____
Période de retrait de 24 hrs après contact avec d'autres porcs	_____	_____	_____	_____
Certains employés travaillent sur d'autres fermes porcines ou ont contact avec d'autres porcs	_____	_____	_____	_____
Nommer la ou les ferme(s) ou autre contact _____				

23. Gestion de la vermine

OUI (1) NON (2) N/A (3) P(4)

Programme de contrôle efficace contre les mouches	_____	_____	_____	_____
Programme de contrôle efficace contre les rongeurs (Aucun rongeur vivant à l'intérieur des bâtiments)	_____	_____	_____	_____
Grilles protectrices prévenant l'entrée d'oiseaux	_____	_____	_____	_____
La présence de chiens ou de chats est interdite dans les bâtiments	_____	_____	_____	_____

24. Au cours du dernier mois avant l'épisode, y a-t-il eu, à votre connaissance, bris de certaines règles de biosécurité (visiteurs ou ouvriers effectuant des réparations inhabituelles)

0. Non,

1. Oui

Commentaires : _____

25. À quelle distance du bâtiment le plus proche est situé le moyen de gestion principal des animaux morts ? _____(mètres)

**** S'il s'agit d'un bac de récupération et qu'il est déplacé au moment de la collecte des carcasses, notez la distance entre le bâtiment le plus proche et l'endroit où la collecte est effectuée.

26. Dernière vidange de la fosse (jour/mois/année) ? ____/____/____**27. Dernier épandage de lisier autour des bâtiments (jour/mois/année) ? ____/____/____**

Était-ce votre lisier ? 1. Oui _____

2. Non _____ À qui appartenait-il ? _____

28. Avez-vous effectué l'épandage vous-même ?

1. Oui _____

2. Non _____ Quelle compagnie a obtenu le contrat ? _____

29. À quelle distance se situe l'élevage ou le bâtiment porcin le plus proche de ce troupeau?
_____ (m)

Appartient-t-il au même propriétaire?

1. Oui
2. Non ,quel est son nom ? _____

Quel type de production y retrouve-t-on?

1. Maternité
2. Pouponnière
3. Engraissement
4. Quarantaine/Aclimatation
5. Élevage extérieur
6. Indéterminé

Ce bâtiment ou élevage est-il touché par le SRRP?

1. Oui
2. Non
3. Indéterminé

Connaissez-vous le nom du vétérinaire traitant?

1. Oui, quel est son nom : _____
2. Non

Tout autre commentaire que vous jugez utile :



Partie 2-Gestion des animaux de remplacement

IDENTIFICATION DE LA FERME

No de cas : _____

Date de visite : _____

Nom de la ferme: _____

Propriétaire: _____

Adresse: _____

Vétérinaire traitant: _____

Affilié au réseau: _____

* Dans ce questionnaire, le terme cochette est utilisé comme synonyme d'animaux de remplacement.

1. Quel est le nombre de cochettes introduites à chaque lot ? _____ cochettes

2. À quelle fréquence les lots de cochettes sont-ils introduits ? _____ semaines

3. À quel poids les cochettes sont-elles achetées ? _____ kg

4. Source(s) des cochettes ? (Dans les derniers 6 mois)

0. Troupeau fermé (Auto renouvellement)

1. Une seule source, la nommer _____

2. Deux sources, les nommer _____

3. Trois sources, les nommer _____

4. Plus de trois sources, les nommer _____

* A. Cochettes de 5 kilos négatives, source : _____

5. Les cochettes proviennent d'un troupeau SRRP

0. Négatif

1. Négatif vacciné

2. Positif

3. Indéterminé

6. Source(s) des verrats ? (Dans les derniers 6 mois)

0. Troupeau fermé (Auto renouvellement)

1. Une seule source, la nommer _____

2. Deux sources, les nommer _____

3. Trois sources, les nommer _____

4. Plus de trois sources, les nommer _____

7. Les verrats proviennent d'un troupeau SRRP

0. Négatif

1. Négatif vacciné

2. Positif

3. Indéterminé

8. Quelles sont la ou les méthode(s) d'acclimatation utilisée(s)?

0. Aucune acclimatation
 1. Exposition à des truies de réforme
 2. Exposition à des porcelets pompeux de la pouponnière
 3. Exposition à des organes d'animaux infectés (poumons, ganglions)
 4. Exposition à des placentas de truies en local de mise-bas
 5. Exposition à du fumier
 6. Injection de sérum infecté de porcelet sous la mère présentant des signes cliniques
 7. Injection de sérum infecté de porcelet en pouponnière présentant des signes cliniques
 8. Injection de sérum infecté de truie présentant des signes cliniques
 9. Exposition à des porcelets volontairement contaminés (seeder)
 10. Méthode dite des 5 kg (< 30 kg)
 11. Autre méthode d'introduction, précisez (Ex : Quarantaine, Auto-renouvellement)
-
-
-

POUR MÉTHODE DITE DES 5 KG, RÉPONDRE QUESTIONS 9A à 13A

POUR AUTRES MÉTHODES, RÉPONDRE QUESTIONS 9B à 13B

MÉTHODE DITE DES 5 KG

9A. Pour la méthode dite des 5 kg (< 30 kg), les cochettes sont introduites avec des porcs commerciaux

1. En pouponnière seulement, dans un parc particulier côtoyant les parcs des autres porcelets.
2. En pouponnière et en engraissement, dans un parc particulier côtoyant les parcs des autres porcs.
3. En pouponnière, dans différents parcs.
4. En pouponnière et en engraissement, dans différents parcs.

Durée d'acclimatation (période d'exposition aux porcs commerciaux) : _____ (semaines)

10A. Un engraissement à cochettes (sans contact avec les porcs commerciaux) est utilisé.

0. Non
1. Oui

11A. Après leur phase d'engraissement, les cochettes sont transférées dans une quarantaine ou local d'isolement (sans contact avec des porcs commerciaux) avant d'être introduites dans le local de gestation.

0. Non (aller à la question 16)
1. Oui, pour une durée de _____ semaines

12A. Ce local de quarantaine ou d'isolement se situe:

1. Dans la gestation, dans un parc réservé aux cochettes.
2. Dans un local annexé à un bâtiment mais pas fermé de façon étanche
3. Dans un local annexé à un bâtiment mais fermé de façon étanche
4. Dans un bâtiment différent mais sur le même site que les bâtiments principaux
5. Dans un bâtiment éloigné des bâtiments principaux (hors site)

* Étanche : Entrée-sortie, dalot et ventilation conçus de manière indépendante..

13A. Quel type de roulement est observé dans la quarantaine ou le local d'isolement de cet élevage ?

1. En rotation (continu)
2. Tout plein tout vide par lot
3. Autres, précisez _____

AUTRES MÉTHODES

9B. À quel âge débute l'acclimatation ? _____ mois

10B. Quel est la durée de la période d'acclimatation ? _____ semaines

11B. À partir du moment où les animaux sont mis en contact avec la source virale potentielle, combien de temps est-il alloué avant de transférer les cochettes dans la maternité-gestation ?
_____ semaines

12B. L'acclimatation des cochettes s'effectue:

1. Dans la gestation, dans un parc réservé aux cochettes
2. Dans un local annexé à un bâtiment mais pas fermé de façon étanche
3. Dans un local annexé à un bâtiment mais fermé de façon étanche
4. Dans un bâtiment différent mais sur le même site que les bâtiments principaux
5. Dans un bâtiment éloigné des bâtiments principaux (hors site)

13B. Roulement de production observé dans le local d'acclimatation ?

1. En rotation (continu)
2. Tout plein tout vide par lot (avec lavage et désinfection entre les lots)
3. Autres, précisez _____

14. Avant leur entrée dans le local de gestation, le statut des cochettes en regard du SRRP est confirmé par des tests diagnostiques.

0. Non

Si oui,

Méthode(s) diagnostique(s) utilisée(s) ?

1. ELISA
2. PCR
3. Séquençage
4. Autres, précisez _____

15. Les cochettes reçoivent-elles un vaccin commercial ?

0. Non

Si oui,

Quel est le vaccin utilisé ?

1. Ingelvac PRRS MLV
2. Ingelvac PRRS ATP
3. Reprocyc PRRS-PLE

Protocole de vaccination:

Âge : _____

Dose : _____

Moment : _____

16. **Les nouveaux verrats ont-ils la même acclimatation ?**
0. Oui
1. Non. En quoi diffère-t-elle ?
-
-
17. **Depuis combien de temps ce protocole d'acclimatation est-il en vigueur ?**
_____ semaines
18. **S'il y a lieu, depuis combien de temps le troupeau est-il fermé ?** _____
19. **Depuis le début de l'utilisation de ce type d'acclimatation, y a-t-il eu un nouvel épisode de SRRP ?**
0. Non
1. Oui Date de début de cet épisode (jour/mois/année) : ____/____/____
20. **Est-ce qu'il s'agissait de la même souche ?**
0. Non
1. Oui
2. Indéterminé
3. Ne s'applique pas