# MALATTIA DI AUJESZKY: L'ORDINE DI NASCITA DEL SUINETTO COME POSSIBILE ELEMENTO DI CRITICITA'

# PSEUDORABIES: THE PIGLET BIRTH ORDER AS A POSSIBLE CRITICAL POINT

SENSI M., FELIZIANI F., PAPA P., ORTENZI R., ZINGARETTI G., ZEMA J. COSTARELLI S.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche

Parole chiave: Malattia di Aujeszky, immunità passiva, ordine di nascita

Key words: Pseudorabies, passive immunity, birth order

**Riassunto**. I suinetti nascono con un sistema immunitario non ancora completamente sviluppato. Per tale ragione è necessario che assumano velocemente la giusta quantità di colostro atto a fornire un'adeguata riserva energetica ed un'efficace protezione immunitaria.

Le frequenti contrazioni uterine che caratterizzano il parto della scrofa possono essere causa di scarsa vitalità degli ultimi soggetti partoriti, con conseguente difficoltà a raggiungere la mammella o a manifestare una suzione efficace. La giusta assunzione di colostro può, pertanto, venire compromessa e condurre ad un inadeguato trasferimento dell'immunità passiva. La ridotta protezione immunitaria crea le condizioni per cui tali animali possano costituire dei veri e propri "clusters" recettivi a diversi agenti eziologici.

Nello svolgere attività di supporto diagnostico in un allevamento sierologicamente positivo alla Malattia di Aujeszky si è voluto approfondire l'aspetto legato alla immunità passiva dei suinetti. Lo scopo è stato quello di comprendere il ruolo che potrebbe avere questa categoria di animali nella diffusione del virus e nella perpetuazione dell'infezione.

Abstract. Newborn piglets have a not fully developed immune system. They must acquire maternal immuno-globulins from ingested colostrum until their immune system becomes fully developed. Frequent uterine contractions characterize the sow's farrowing. These contractions reduce oxygenation to the unborn piglets and increase the perinatal mortality and morbidity. The ability of weak piglets to seek a teat and suckle is impaired. The right intake of colostrum may be altered, resulting in inadequate transfer of passive immunity. The reduced immune protection can plays a role in creating receptive clusters for different causative agents. During our diagnostic activity in a herd serologically positive for Aujeszky's disease, we studied the passive immunity in some piglets in order to understand their role in spreading of the virus and its perpetuation in the farm.

# INTRODUZIONE

Il suinetto nasce con un sistema immunitario non ancora completamente sviluppato. La natura epitelio coriale della placenta della scrofa, infatti, non permette il passaggio di determinate molecole e quindi del necessario corredo di immunoglobuline capaci di fornire la corretta protezione immunitaria al giovane animale (7). Il suinetto quindi, nel periodo che va dalla nascita alla maturità del proprio sistema immunitario (intorno all'età di svezzamento), è completamente dipendente dalla madre per quanto concerne le sue possibilità di sopravvivenza. Per tale ragione è necessario che assuma, quanto più velocemente possibile, la giusta quantità di colostro che gli fornisca un'adeguata riserva energetica ed un'efficace protezione immunitaria.

Le immunoglobuline vengono assorbite dalla mucosa intestinale del suinetto nelle prime 36 ore di vita (2). Quindi, la possibilità di raggiungere quanto più velocemente possibile un capezzolo "funzionante" rappresenta una discriminante importante ai fini della capacità di sopravvivenza del giovane animale.

Inoltre l'assenza di una vera e propria "cisterna" nella mammella della scrofa e la liberazione di colostro per periodi molto brevi (circa 20-30 secondi) (3), crea inevitabili lotte fra i neonati. Il suinetto deve poter assumere i 20-30 g di colostro normalmente rilasciati da un capezzolo funzionante in quel breve lasso di tempo. E' sufficiente ritardare anche di 1 solo secondo l'inizio di tale assunzione per perdere fino al 10% del quantitativo totale (8).

E' fondamentale quindi che vengano rispettati al meglio i fabbisogni, fisiologici e di benessere, della scrofa e della sua prole. Qualsiasi fattore che determini una "alterata" assunzione di colostro comporta, inevitabilmente, una alterazione del patrimonio immunitario di ciascun individuo e crea disomogeneità dello stato immunitario della figliata (1).

Nello svolgere attività di supporto diagnostico in un allevamento sierologicamente positivo alla Malattia di Aujeszky, sono state suggerite diverse misure atte al controllo dell'infezione. Tra queste si è voluto approfondire l'aspetto legato alla immunità passiva dei suinetti allo scopo di comprendere il ruolo che potrebbe avere questa categoria di animali nella diffusione del virus e nella perpetuazione dell'infezione.

Scopo del presente lavoro è stato quello di approfondire le dinamiche immunitarie in un allevamento di suini, a ciclo chiuso, dove, nonostante la corretta applicazione della profilassi vaccinale nei confronti della Malattia di Aujeszky (con relativa riforma dei riproduttori risultati positivi al monitoraggio sierologico), si continuavano ad evidenziare sieropositività nei soggetti in accrescimento.

# MATERIALI E METODI

Si è operato all'interno di un allevamento da riproduzione, a ciclo chiuso dove nel corso degli ultimi controlli sierologici previsti dal Piano di Monitoraggio e Controllo per la Malattia di Aujeszky, erano state evidenziate ancora delle positività fra i soggetti del reparto "messa a terra" e magronaggio.

L'allevamento in questione, con un organico di oltre 300 scrofe riproduttrici ed un'organizzazione del lavoro a bande settimanali, effettuava la profilassi nei confronti della Malattia di Aujeszky secondo quanto previsto dalla Normativa vigente, vale a dire vaccinazione di tutti i riproduttori (a tappeto) tre volte l'anno, con vaccino spento deleto, vaccinazione della progenie a 70 – 80 giorni di età e successivo richiamo dopo 4 settimane, con vaccino a virus vivo attenuato. E' stato pianificato un programma di monitoraggio sierologico che comprendeva il controllo delle scrofe al momento del parto e della loro progenie, in periodi successivi di accrescimento.

Sono state pertanto saggiate n° 12 scrofe (3 primipare e 9 pluripare) e le loro figliate ospitate nella stessa sala e giunte al parto nella medesima giornata. La sala parto, era organizzata con due file di gabbie parto in metallo, con pavimentazione in grigliato di

plastica, rialzate dal pavimento, separate da un corridoio centrale.

Per evidenziarne l'ordine di nascita i suinetti di ciascuna figliata sono stati identificati individualmente con numeri progressivi, mediante tatuaggio auricolare.

Le scrofe avevano ricevuto l'ultima vaccinazione nei confronti della Malattia di Aujeszky 48 gg prima del parto.

A parti espletati è stato effettuato un prelievo di sangue da ciascuna scrofa e relativa figliata (T 0). Ulteriori controlli sierologici sono stati effettuati nei suinetti a 14 giorni di vita (T 1) e 28 giorni (T 2) in concomitanza con la giornata di svezzamento.

Le aliquote di siero sono state stoccate in congelatore a  $-20^{\circ}$  C e qui mantenute fino al giorno del controllo sierologico.

Ogni campione di siero è stato saggiato per la ricerca di anticorpi nei confronti dell'antigene vaccinale e della glicoproteina E del virus della Malattia di Aujeszky (Idexx HerdCheck Anti PRV gpB®; Idexx HerdCheck Anti PRV gpI®; )

#### Descrizione dello studio

È stata condotta un'indagine statistica tesa a valutare la copertura dell'immunità passiva: si è intesa come ipotesi nulla che tale copertura fosse omogenea nella popolazione di suinetti oggetto dello studio e che eventuali deficit immunitari (testimoniati dalla negatività al test sierologico) fossero distribuiti in forma del tutto casuale. L'ipotesi alternativa ha previsto, al contrario, che l'ordine di nascita possa avere un'influenza nella protezione immunitaria dei suinetti. In particolare che gli ultimi nati possano ricevere una minore difesa immunitaria. In questo caso le negatività al test sierologico si concentrerebbero nei soggetti nati nelle fasi terminali di ciascun parto.

A questo fine sono stati considerati "casi" quei suinetti in cui è stato riscontrato un risultato sierologico negativo in almeno uno dei tre test effettuati; al contrario i soggetti risultati positivi a tutte le prove sierologiche sono stati classificati come "controlli". I soggetti morti durante l'esperimento non sono stati esclusi dallo studio analitico e, di questi, sono stati considerati i test effettuati prima della morte; i soggetti nati morti, invece, non sono stati inclusi nello studio.

Ai fini dell'analisi statistica sono stati eseguiti dei test per verificare la significatività delle stime ottenute dall'analisi dei dati (6). A questo scopo è stato usato il software Freeware "WINEPISCOPE" realizzato e distribuito dall'Università di Saragozza in collaborazione con le Università di Edimburgo e Wageningen.

# RISULTATI

I risultati dei controlli sierologici nelle scrofe e nelle relative figliate sono riassunti nella Tabella 1 (Anticorpi anti gpB).

 $\textbf{Tab. 1} - (\textit{Anticorpi anti gpB}) - \textit{Riepilogo dei controlli sierologici nelle scrofe in esame e nelle loro figliate} \\ \textbf{Tab. 1} - (\textit{gpB antibodies}) - \textit{Results of serological monitoring in sows and their litters} \\$ 

	Durata parto								PRO	G	ш -	in ORDINE	E di NASCITA	SCITA						
0	•	Controllo	Scrofa	-	2	8	4	9	9	7	8	6	10	11	12	13	14	15	16	TOTALE NATI
520		T0	Pos.	Pos.	Nato Morto	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Neg	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.						11
		11	Pos	Pos		Pos.	Pos	Pos.	Pos	Neg	Pos.	Pos	Pos.	Neg.						
		T.2	Pos.	Pos.		Pos.	Pos	Neg	Pos.	Neg	Neg	Pos.	Neg	Neg						
310		TO	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos.	Pos					12
		11	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Neg	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Neg	Pos	Morto					
		T2	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Neg	Pos.	Pos.	Morto	Pos.	Pos.	Morto	Pos.	Morto					
88		TO	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos	Topographic .	14.00	170000000					60
			Pos	Morto	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos								
		T2	Pos.	Morto	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos								
230		TO	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos						11
		T1	Pos	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos	Neg						
		12	Pos	Pos	Pos	Nea	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos.	Neg						
180		10	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Nato Morto	Pos	Pos	Pos	Pos.	Pos				13
		П	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos		Pos.	Pos	Morto	Pos.	Pos.				
		i.	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos		Pos.	Pos	Morto	Pos.	Pos				
270			Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Neg	Pos.		15
			Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Morto	Pos.	Pos.	Morto	Neg	Pos		
	П		Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Morto	Pos.	Neg.	Morto	Neg	Neg		
305		T0	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos.					12
		11	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos.					
		T2	Pos.	Pos.	Neg	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Neg	Pos.					
320			Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	16
		11	Pos	Pos	Pos	Pos.	Morto	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos	Neg	
		12	Pos	Pos	Pos	Pos	Morto	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Neg	Neg	
382	П	TO	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Nato Morto	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos		15
			Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.		Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.		
		T2	Pos.	Pos.	Morto	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Neg		Pos.	Neg.	Pos	Pos.	Pos	Pos.		
190		T.0	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos.	Nato Morto	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos.			14
		T1	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos		Pos	Pes.	Pos	Pes.	Pos	Pes.	Neg	Pos.	Pos.			
		T.2	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos.		Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Neg	Pos.	Pos.			
260			Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.					12
		1.1	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.					
	П		Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos	Neg					
300			Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.				13
		11	Pos	Morto	Pos.	Pos	Pos.	Pos	Pos	Pos	Pos.	Pos	Pos.	Morto	Pos.	Pos.				
			Pos.	Morto	Pos.	Pos.	Pos	Pos	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Neg.	Morto	Pos.	Neg				

I 149 suinetti sono stati registrati in base all'ordine di nascita (dal 1° all'ultimo di ogni figliata) e in base alla classificazione in "casi" (almeno un test sierologico negativo alla gpB) e "controlli" (tutti i test sierologici con risultato positivo alla gpB) (tabella 3).

**Tab. 3** - Suddivisione dei 149 suinetti in "casi" (sieronegativi) e "controlli" (sieropositivi) per ordine di nascita

**Tab. 3** - Number of seronegative (cases) and sieropositive (controls) piglets splitted following birth order

Ordine di nascita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Tot
Casi	0	1	1	1	1	0	1	2	0	3	4	3	1	1	2	1	22
Controlli	12	10	11	11	10	12	11	9	11	8	7	6	5	3	1	0	127

In totale sono stati riscontrati 22 suinetti sieronegativi alla gpB mentre i restanti 127 suinetti sono risultati sieropositiviti.

Dividendo i suinetti in classi in base all'ordine di espulsione, si osserva che i soggetti nati tardivamente presentano una frequenza di "casi" superiore ai soggetti nati all'inizio del parto (Tabella 4)

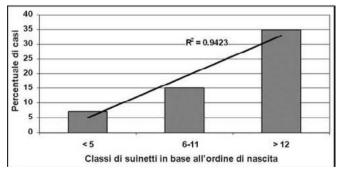
Tab. 4 - Frequenza di "casi" per ordine di nascita suddiviso in 3 gruppi

**Tab. 4 -** "Cases" frequency following birth order (splitted into three groups)

Ordine di nascita	"Casi"	"Controlli"	% "Casi"
1 - 5	4	54	7
6 - 11	10	58	17
12 - 16	8	15	53

Risulta evidente che nella fascia dei nati più tardivamente, la percentuale di "casi" vs "controlli" è di gran lunga maggiore rispetto a quella dei nati nelle fasi iniziali ed intermedie. Il test del "chi quadro" applicato ai dati sopra esposti appare significativo ( $\mathbf{X}^2 = 10,18$  con due gradi di libertà p< 0.006).

È anche rilevabile un trend riguardo la frequenza di casi che aumentano con il progredire dell'ordine di nascita (vedi grafico 1) e il relativo valore di R<sup>2</sup> risulta molto elevato (0.9423).



**Grafico 1**: Percentuale dei "casi" e valore R<sup>2</sup> **Graph. 1**: "Cases" percentage and R<sup>2</sup> value

Come si evince dalla Tabella 5, i soggetti che nascono fra la decima e la dodicesima espulsione sembrano maggiormente colpiti dal fenomeno in osservazione.

**Tab. 5** - Percentuale di "casi" e "controlli" nei soggetti della 10<sup>a</sup> - 12<sup>a</sup> espulsione rispetto al resto dei suinetti

**Tab. 5** - "Cases" and "Controls" percentage in piglets born from 10<sup>th</sup> to 12<sup>th</sup> position of birth order

Ordine di nascita	Casi	Controlli	% Casi
10-12	10	21	32
resto	12	106	10

Assumendo la misura dell'Odds Ratio come stima del Rischio Relativo, si può notare che i soggetti che nascono in questa fascia mostrano una probabilità più che quadrupla di risultare negativi al test rispetto agli altri suinetti (Odds Ratio = 4,21 I.C. 1,45 - 12,21 L.C. 95% p<0,005).

Categorizzando la popolazione oggetto dello studio in modo diverso e cioè considerando la frequenza di casi tra i suinetti nati nelle ultime 4 espulsioni di ogni parto, si nota che questa è assolutamente maggiore rispetto ai suinetti nati nelle prime fasi del parto (vedi tabella 6)

**Tab. 6** - Percentuale di "casi" e "controlli" nei soggetti delle ultime 4 espulsioni rispetto al resto dei suinetti

**Tab. 6** - "Cases" and "Controls" percentage in piglets born in the last 4 positions of birth order vs others

Ordine di nascita	Casi	Controlli	% Casi
Ultimi 4	15	32	32
resto	7	95	7

In questo caso la probabilità di avere una copertura immunitaria inadeguata è addirittura di sei volte maggiore rispetto al resto della nidiata (Odds Ratio = 6,36 I.C. 2,18 - 19,13 L.C. 95% p<0,0005).

#### DISCUSSIONE

I risultati del nostro studio indicano che i suinetti nati più tardivamente manifestano una percentuale di casi di negatività sierologica agli anticorpi vaccinali per il virus della Malattia di Aujeszky, significativamente più elevata.

Cercando di analizzare le cause di questo fenomeno non si può prescindere da una valutazione sugli aspetti etologici del parto e dell'allattamento della specie suina. E' risaputo che, nella scrofa, gli eventi associati al parto condizionano fortemente le performance post-natali dei suinetti. Una delle complicazioni che si presenta con una certa frequenza nel suino durante il parto è l'ipossia o l'anossia causata dalle numerose contrazioni cui va incontro l'utero della scrofa (1)

La forza di tali contrazioni, infatti, può essere tale da comportare una riduzione di flusso circolatorio con conseguente scarso apporto di sangue ossigenato ai feti. Alcune volte le conseguenze sono particolarmente gravi per il determinarsi di lesioni o della rottura dell'arteria ombelicale o per un distacco prematuro della placenta.

Nella maggior parte dei casi, tuttavia, gli effetti di queste ipossie o anossie transitorie sono meno gravi comportando, semplicemente, una scarsa vitalità dei suinetti alla nascita. Questa situazione si presenta con maggiore frequenza negli ultimi nati della nidiata che subiscono più facilmente il fenomeno dell'ipossia intra-parto a causa del maggior numero di contrazioni uterine dovute alle espulsioni precedenti (1). I soggetti meno vitali tendono a liberarsi con maggior difficoltà dagli invogli fetali, condizione che può determinare situazioni di ipotermia. La temperatura rettale, pertanto, può risultare più bassa già dopo un'ora dalla nascita, come è stato dimostrato in alcuni studi, e la capacità di termoregolazione risulta fortemente compromessa (4,5).

La scarsa vitalità del suinetto dovuta ai fenomeni precedentemente descritti, lo porta a raggiungere la mammella con difficoltà e, anche qualora la raggiunga, a manifestare una ridotta capacità di suzione.

In queste circostanze viene compromessa la giusta assunzione del colostro da parte dei neonati (5) con conseguente inadeguato trasferimento di immunità passiva, nonostante l'eiezione di colostro sia costante per circa 7 ore dopo la nascita dell'ultimo suinetto.

#### CONCLUSIONI

In riferimento alle problematiche dell'allevamento oggetto di studio, è possibile che il "Critical Point" sia costituito dai soggetti nati nelle ultime espulsioni. In numerosi di questi suinetti si riscontra una sieropositività alla gpB, al momento della nascita, che non viene confermata nei controlli successivi. In alcuni casi, addirittura, si registra una costante sieronegatività. La ridotta protezione immunitaria crea le condizioni per cui tali animali possano costituire dei veri e propri "clusters" recettivi al Virus della Malattia di Aujeszky e favorirne, così, la persistenza in allevamento.

Quanto emerso dal nostro studio ci porta a riflettere su due aspetti.

Il primo relativo alla necessità di una costante e precisa attenzione della gestione peripartale nelle moderne linee genetiche iperprolifiche. L'elevato numero di nati per figliata e la vulnerabilità dei neonati richiedono particolari attenzioni ed adeguate condizioni manageriali per garantire ad ogni singolo suinetto idonee possibilità di sopravvivenza.

Questo significa che nelle moderne unità di allevamento debbano essere sempre assicurate:

- Supervisione dei parti, controllo della loro durata ed assistenza;
- Cura immediata dei soggetti nati sottopeso e/o degli ultimi nati:
- Rapido raggiungimento della mammella ed adeguata assunzione di colostro da parte di ogni suinetto,
- Idonee temperature ambientali specifiche per la madre ed i suinetti (utilizzo di lampade riscaldanti aggiuntive da posizionare nella zona posteriore della gabbia da rimuovere a parto completato).

L'altra riflessione riguarda l'aspetto legato al ruolo degli ultimi suinetti delle nidiate come possibili "cluster" di recettività e perpetuazione del virus della Malattia di Aujeszky. I risultati ottenuti sembrano confermare questo potenziale rischio suggerendo che un monitoraggio sierologico nei confronti della glicoproteina B, eseguito in scrofe e suinetti nel periodo "parto-svezzamento", possa costituire un valido strumento di verifica del piano vaccinale applicato. Riteniamo possibile, infatti, che la vaccinazione delle scrofe effettuata "a tappeto" per una razionalizzazione del management e dei costi aziendali possa determinare situazioni di disomogeneità nella risposta immunitaria alla vaccinazione. Di conseguenza, l'immunità passiva trasferita alla prole può risultare inadeguata e condurre a situazioni di criticità dello stato immunitario dell'allevamento.

# BIBLIOGRAFIA

- Alonso-Spilsbury M., Ramirez-Necoechea R., Gonzales-Lozano M., Mota-Rojas D., Trujillo-Ortega M.E., (2007) "Piglet Survival in Early Lactation: A review" J. Anim. Vet. Adv., 6 (1): 76-86;
- 2. De Passillé A.M.B., Rushen J. Harstock T.G. (1988) "Ontogeny of teat fidelity in pigs and its relation to competition at suckling" Can. J. Anim. Sci., 68:325-338;
- 3. Fraser D., Phillips P.A., Thompson B.K., Pajor E.A., Weary D.M., Braithwaite L.A. (1995) "Behavioural Aspects of Piglets Survival and Growth" in M.A. Varley (Ed.). The Neonatal Pig. Development and Survival. CAB International, UK, pp:287-312;
- 4. Herpin P., Le Dividich J., Claude H.J., Fillaut M., De Marco F., Bertin R., (1996) "Effects of the level of asphyxia during delivery on viability at birth and early post-natal vitality of newborn pigs" J. Anim. Sci., 74:2067-2075;
- 5. Herpin P., Le Dividich J., (1998) "Termorregulation y Entorno" in M.A. Varley (Ed.). *El Lechon Recién Nacido*. Acribia, Espana,pp 87-97;
- 6. Pfeiffer D. 2010 "Veterinary epidemiology: an introduction" Wiley-Blackwell
- 7. Rooke J.A., Bland I.M. (2002) "The acquisition of passive immunity in the newborn piglet" Livestock Production Science 78, 13-23;
- 8. Rushen J. and Fraser D. (1989) "Nutritive and non-nutritive suckling and the temporal organization of the suckling behaviour of domestic piglets". Dev. Psychobiol. 22:789-801;