

# EFFICACIA COMPARATIVA DI VACCINI VERSO *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* E PCV2

## COMPARATIVE EFFICACY OF VACCINES AGAINST *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* AND PCV2

ALBERTO E. CEVIDALLI<sup>1</sup>, FABIO FORESTI<sup>2</sup>,

*1-MSD Animal Health, Segrate (MI)*

*2-Medico Veterinario Libero Professionista, Seriate (BG)*

**Parole chiave:** *Mycoplasma hyopneumoniae*, PCV2, vaccinazione

**Key Words:** *Mycoplasma hyopneumoniae*, PCV2, vaccination

**Riassunto.** La polmonite enzootica indotta da *Mycoplasma hyopneumoniae* è ancora un'evenienza frequente nell'allevamento intensivo del suino. Un metodo relativamente semplice per verificare l'efficacia degli interventi vaccinali verso questo patogeno è la valutazione delle lesioni polmonari Myco-like in sede di macellazione. L'infezione da PCV2 (Porcine Circovirus type 2) è pressoché ubiquitaria negli allevamenti italiani. Negli ultimi anni il decorso di questa infezione è diventato più subdolo e si può manifestare con una varietà di manifestazioni cliniche che tutte insieme vengono denominate PCVAD (Porcine Circovirus Associated Diseases) oppure, in mancanza di fattori scatenanti, l'infezione può decorrere in forma subclinica. Oggigiorno esistono in commercio dei vaccini che permettono di controllare efficacemente questa infezione e i danni che essa comporta. Esistono però delle differenze importanti per quanto riguarda la composizione dei vaccini, sia relativamente all'antigene sia per quanto riguarda l'adiuvante. In questo articolo vengono illustrati i risultati di due studi di campo, dove è stato messo a confronto l'impiego dei vaccini vs. *M. hyopneumoniae* e PCV2, rispettivamente M+PAC<sup>TM</sup> e Porcilis® PCV, rispetto all'impiego di una associazione di due vaccini analoghi. Il protocollo dello studio 1 ha previsto anche la misurazione dei titoli anticorpali, e sono state riscontrate delle differenze evidenti ed inequivocabili nell'entità della risposta anticorpale a favore di M+PAC<sup>TM</sup> e Porcilis® PCV, rispetto ai due vaccini analoghi. Inoltre in entrambi gli studi in esame è stata riscontrata una maggiore protezione a livello polmonare dei gruppi vaccinati con M+PAC<sup>TM</sup>. Differenze di tipo clinico e sanitario (perdite, trattamenti individuali) sono state riscontrate nello studio 2, che ha evidenziato dei risultati superiori per il gruppo vaccinato con M+PAC<sup>TM</sup> e Porcilis® PCV.

**Summary.** Enzootic pneumonia, induced by *Mycoplasma hyopneumoniae* is still frequent in industrial swine production. A simple method to evaluate the efficacy of vaccinations against this pathogen is the lung scoring of Myco-like lesions at slaughterhouse. PCV2 (Porcine Circovirus type 2) infection is almost ubiquitous in Italian swine herds. In recent years the course of this infection became more insidious and can appear with a variety of clinical manifestations, that altogether are named PCVAD (Porcine Circovirus Associated Diseases) or, in the absence of triggering factors, the course of PCV2 infection can be sub-clinical. Nowadays several vaccines are present on the market, which can effectively control this infection and the related damages. Nevertheless, important differences between these vaccines exist, which regard their composition, in particular the antigen

and the adjuvant. This paper reports the results of two field trials, in which M+PAC™ and Porcilis® PCV have been compared to a combination of two other vaccines against *M. hyopneumoniae* and PCV2. The protocol of study 1 included the titration of antibodies and thus it has been possible to highlight important differences in the antibodies level in favor of M+PAC™ and Porcilis® PCV, compared to the 2 analogous vaccines. In addition, in both trials a better lung protection induced by M+PAC™ has been found, by comparing the lung scores at slaughter. Clinical and health differences (losses, injectable treatments) between study groups have been found in study 2, in which better results have been obtained by vaccinating piglets with M+PAC™ and Porcilis® PCV.

## INTRODUZIONE

La polmonite enzootica indotta da *Mycoplasma hyopneumoniae* è ancora un'evenienza frequente nell'allevamento intensivo del suino.

In un'indagine condotta su un totale di 4889 carcasse appartenenti a 48 lotti di suini pesanti inviati al macello nell'arco di un periodo di 3 mesi e provenienti da allevamenti della pianura padana è stata riscontrata una prevalenza di lesioni *Myco-like* pari al 46,4% (1). Nell'arco degli ultimi anni l'attenzione verso questo patogeno e verso le misure di controllo è andata nella direzione di una maggiore comodità dell'intervento vaccinale, con lo spostamento dai vaccini 2-shot a quelli 1-shot e con la comparsa sul mercato di vaccini associabili ad altre valenze. Tuttavia è importante che la comodità di impiego non vada a scapito dell'efficacia degli interventi vaccinali. Un metodo relativamente semplice per verificare l'efficacia degli interventi vaccinali è la valutazione delle lesioni polmonari *Myco-like* in sede di macellazione. Questo permette anche la concomitante valutazione delle lesioni pleuriche mediante la griglia SPES (2). Infatti, anche la pleuropolmonite continua ad essere presente negli allevamenti suini e nello studio di cui sopra la percentuale di animali con lesioni pleuriche indicative di APP (punteggio SPES  $\geq 2$ ) è stato pari al 25,1% (1). L'infezione da PCV2 (Porcine Circovirus type 2) è pressoché ubiquitaria negli allevamenti italiani. Recenti dati epidemiologici relativi a 38 aziende suinicole della pianura padana in cui sono stati effettuati dei profili sierologici e di PCR relativamente a PRRSv e PCV2, presentati durante un recente convegno su questo argomento (3), hanno messo in evidenza la presenza dell'infezione nel 100% degli allevamenti. Non sempre l'infezione da PCV2 si manifesta clinicamente come PMWS (*Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome*), anzi negli ultimi anni il decorso di questa infezione è diventato più subdolo e si può manifestare con una varietà di manifestazioni cliniche che tutte insieme vengono denominate PCVAD (*Porcine Circovirus Associated Diseases*) oppure, in mancanza di fattori scatenanti, l'infezione può decorrere in forma subclinica, ma è stato dimostrato che viremie da PCV2 ad alto titolo determinano perlomeno un decremento dei risultati produttivi (4,5).

Oggigiorno esistono in commercio dei vaccini che permettono di controllare efficacemente questa infezione e i danni che essa comporta. Esistono però delle differenze importanti per quanto riguarda la composizione dei vaccini, sia relativamente all'antigene sia per quanto riguarda l'adiuvante, che determinano delle evidenti differenze nella risposta anticorpale post-vaccinale (6,7).

In questo articolo vengono illustrati i risultati di due studi di campo, condotti in aziende suinicole della pianura padana, dove è stato messo a confronto l'impiego dei vaccini vs. *M. hyopneumoniae* e PCV2, rispettivamente M+PAC™ e Porcilis® PCV, rispetto all'impiego di una associazione di due vaccini analoghi.

## MATERIALI E METODI

### Studio 1:

#### Allevamento e animali

Lo studio si è svolto in un allevamento a ciclo chiuso della pianura padana per la produzione del tipico suino pesante; 683 suinetti di 3 settimane di vita sono stati assegnati in modo casuale a tre differenti gruppi di trattamento come segue:

- 217 sono stati vaccinati, mediante iniezione in due punti di inoculo separati, con M+PAC™ e Porcilis® PCV (gruppo MSD Animal Health);
- 230 sono stati vaccinati con un'associazione di due vaccini vs. *M.hyopneumoniae* e vs. PCV2, di un'altra azienda farmaceutica, mescolati tra loro prima di essere iniettati, come indicato dall'azienda produttrice (gruppo B);
- 236 non sono stati vaccinati e sono serviti da gruppo di controllo.

I suini dei 3 gruppi sono stati contrassegnati individualmente ed allevati mescolati insieme e sono quindi stati sottoposti alle stesse identiche condizioni ambientali e alle stesse dinamiche di infezione.

Oltre alle vaccinazioni obbligatorie contro la malattia di Aujeszky, tutti i suini erano anche vaccinati nei confronti di *A. pleuropneumoniae* mediante due interventi con Porsilis® APP.

#### Indagini di laboratorio

Allo scopo di valutare la risposta immunitaria alla vaccinazione nei confronti di PCV2 e *Mycoplasma hyopneumoniae* e l'andamento dell'infezione naturale, in animali vaccinati con due differenti associazioni di vaccini o non vaccinati, 20 suini per ognuno dei 3 gruppi in prova (60 in tutto) sono stati contrassegnati mediante una seconda marca auricolare e quindi prelevati a 3, 6, 8, 12, 14, 18, 22, 26 e 40 settimane di vita.

Su tutti i campioni di sangue sono stati effettuati gli esami sierologici nei confronti del PCV2 mediante un'ELISA competitiva, ALPHA-PCV, con titoli anticorpali espressi come Log<sub>2</sub>, e nei confronti di *M.hyopneumoniae* mediante il kit ELISA di Idexx, con risultati espressi come valore S/P. Inoltre, sulla base dei risultati della sierologia vs. il PCV2 si è proceduto alla ricerca e quantificazione del genoma virale di PCV2 sui singoli campioni, mediante PCR quantitativa, espressa in Log<sub>10</sub> copie/μL, sugli ultimi 2 prelievi (26 e 40 settimane di vita).

#### Parametri sanitari

Nel corso dell'intero studio sono stati raccolti i dati relativi alle perdite totali (mortalità e suini scartati).

#### Valutazione polmonare al macello

I suini di questa prova sono stati sottoposti in sede di macellazione alla valutazione delle lesioni polmonari da *M.hyopneumoniae* (metodo Madec modificato) e al punteggio delle pleuriti (metodo SPES) secondo quanto descritto in Dottori et al. (2), da parte del personale specializzato della sezione di Reggio Emilia dell'IZSLER.

#### Analisi statistica

Relativamente alla mortalità, scarti e perdite totali, la comparazione tra i gruppi è stata effettuata mediante riconduzione dei dati al modello lineare generale misto (random log-binomial model) La variabile dipendente del modello era il gruppo di trattamento (fixed effect), mentre la nidata di origine è stata considerata il fattore casuale (random effect). I

risultati sono espressi come Rischio Relativo (RR) con relativi limiti di confidenza 2-tailed 95% CI e significatività  $p < 0,05$ .

Per quanto riguarda il punteggio polmonare, le differenze osservata tra i gruppi a confronto sono state comparate tramite test non parametrico Kruskal Wallis con livello di significatività  $p < 0,05$ .

## **Studio 2:**

### Allevamento e animali

392 suini di un allevamento italiano a ciclo chiuso per la produzione del suino pesante sono stati vaccinati a 4 settimane di vita con:

- Gruppo MSD A.H.: M+PAC™ e Porcilis® PCV iniettati in due distinti punti di iniezione (n = 196),  
oppure
- Gruppo B: un'associazione di due vaccini vs. *M.hyo pneumoniae* e PCV2 mescolati tra loro prima di essere iniettati, come indicato dall'azienda produttrice (n = 196).

I suini di entrambi i gruppi sono stati inoltre vaccinati con Porsilis® PRRS all'età di due settimane e poi sono stati sottoposti alle vaccinazioni obbligatorie verso la Malattia di Aujeszky.

### Parametri sanitari

I suini sono stati monitorati fino alla macellazione e oltre ai dati di mortalità e agli scarti sono stati raccolti anche i dati relativi ai trattamenti antibiotici iniettabili.

### Valutazione polmonare al macello

Anche i suini di questa prova sono stati sottoposti in sede di macellazione alla valutazione delle lesioni polmonari da *M.hyo pneumoniae* e al punteggio delle pleuriti da parte del personale delle sezioni di Reggio Emilia e Bologna dell'IZSLER, che ha provveduto anche all'elaborazione dei dati.

### Analisi statistica

Relativamente alla mortalità, scarti e perdite totali, la comparazione tra i gruppi è stata effettuata mediante riconduzione dei dati al modello lineare generale misto (random log-binomial model) La variabile dipendente del modello era il gruppo di trattamento (fixed effect), mentre la nidata di origine è stata considerata il fattore casuale (random effect). I risultati sono espressi come Rischio Relativo (RR) con relativi limiti di confidenza 2-tailed 95% CI e significatività  $p < 0,05$ .

Per quanto riguarda i trattamenti iniettabili, le differenze tra i trattamenti sono state confrontate mediante riconduzione dei dati al modello lineare generale misto (random poisson regression). La variabile dipendente del modello era il gruppo di trattamento (fixed effect), mentre la nidata di origine è stata considerata il fattore casuale (random effect). I risultati sono espressi come Rischio Relativo (RR) con relativi limiti di confidenza 2-tailed 95% CI e significatività  $p < 0,05$ .

Per quanto riguarda il punteggio polmonare le differenze osservata tra i gruppi a confronto sono state comparate tramite test non parametrico Kruskal Wallis con livello di significatività  $p < 0,05$ .

## RISULTATI

### Studio 1

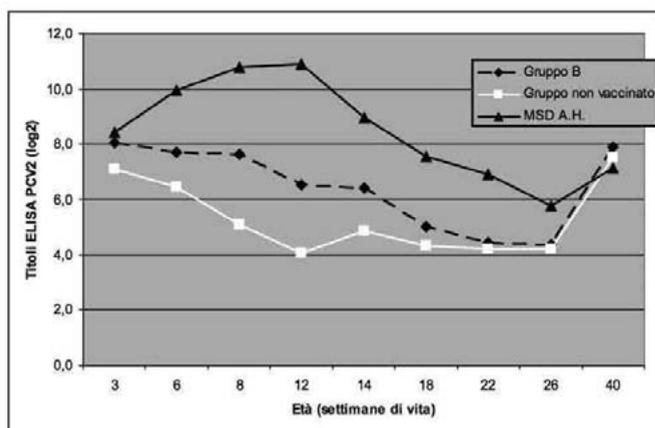
I risultati delle indagini sierologiche condotte sui 3 gruppi di suini impiegati nello studio hanno evidenziato titoli anticorpali più elevati nel gruppo MSD A.H. rispetto a quanto osservato per il gruppo B e il gruppo di controllo (Fig. 1 e 2).

Nei 3 gruppi è stato riscontrato un rialzo anticorpale tardivo vs. PCV2, oltre le 26 settimane di vita, e oltre le 12-14 settimane di vita per *M. hyopneumoniae*.

Relativamente al rilevamento del PCV2 nel siero degli animali analizzati durante questo studio è stata riscontrata una positività solo nei campioni provenienti da animali di 40 settimane, con un numero di copie genomiche compreso tra 0,7 e 2,5 log<sub>10</sub>/μL.

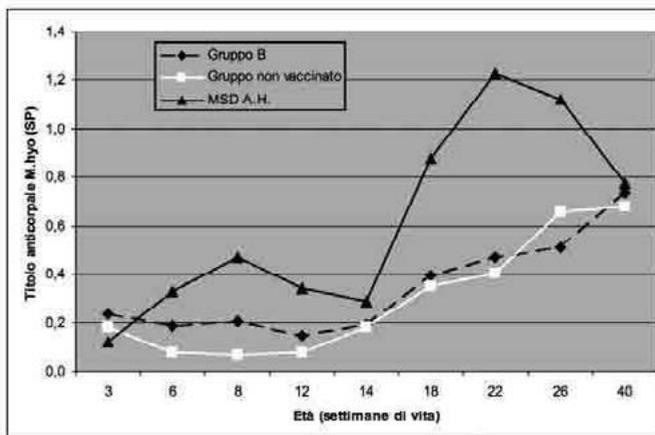
**Figura 1:** Titoli anticorpali ELISA vs. PCV2.

**Figure 1:** Antibodies' levels (ELISA) against PCV2.



**Figura 2:** Titoli anticorpali SP ratio vs. *M. hyopneumoniae*.

**Figure 2:** Antibodies' levels (SP ratio) against *M. hyopneumoniae*.



I dati relativi alle perdite sono riassunti in tabella 1.

	MSD A.H.	Gruppo B	Non vaccinati
Morti (%)	6,5	4,8	8,1
Scarti (%)	3,2	4,3	2,5
Perdite totali (%)	9,7	9,1	10,6

**Tabella 1:** *Mortalità, % di scarti e % di perdite (morti + scarti) nei 3 gruppi in prova.*

**Table 1:** *Mortality, % of runts and % of losses (dead + runts) in the 3 trial's groups*

21 suini nel gruppo MSD A.H. (9,7%), un ugual numero nel gruppo B (9,1%) e 25 (10,6%) suini del gruppo di controllo sono morti o sono stati scartati nel periodo intercorso fino alla macellazione (tab.1).

Sono stati quindi macellati 196 suini del gruppo MSD A.H., 209 del gruppo B e 211 suini del gruppo di controllo.

L'elaborazione statistica dei risultati di questo studio non ha messo in evidenza differenze significative, relativamente alle percentuali di mortalità, di scarti o di perdite totali, tra ognuno dei gruppi vaccinati e quello non vaccinato e tra i due gruppi vaccinati messi a confronto l'uno con l'altro (tab. 2).

Confronto	Risk Ratio Perdite Totali	lower 95% CL	upper 95% CL	Significatività (P-value)
<b>Gruppo B vs. MSD A.H.</b>	0.944	0.530	1.680	0.843
<b>Gruppo B vs. non vaccinati</b>	0.862	0.496	1.497	0.597
<b>MSD A.H. vs. non vaccinati</b>	0.914	0.527	1.585	0.747

**Tabella 2:** *Analisi dell'inferenza statistica tra i tre gruppi in prova (perdite totali) – studio 1.*

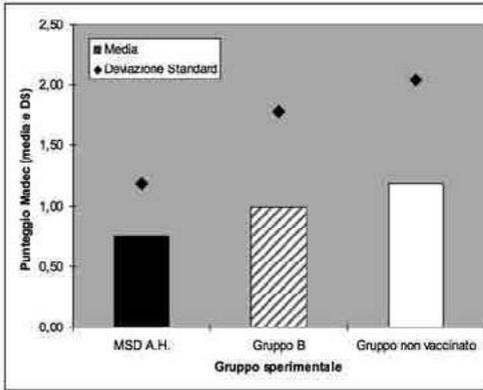
**Table 2:** *Inferential analysis between the three groups (total losses) – study 1.*

Al macello sono stati eseguiti i punteggi polmonari, sia SPES (no differenze significative tra i gruppi) sia Madec, relativamente al quale è stata rilevata una differenza significativa tra Gruppo MSD A.H. e controllo ( $p < 0,05$ ) e non tra gruppo B e controllo, e tra gruppo MSD e gruppo B (vedi tabella 3 e figura 3).

Gruppo	Polmoni con lesioni Myco-like	Media ± DS	Mediana
<b>MSD A.H. (M+PAC™ e Porcilis® PCV)</b>	43,5%	0,75 ± 1,19	0
<b>Gruppo B (altri vaccini mescolati)</b>	48%	0,99 ± 1,78	0
<b>Controllo (non vaccinati)</b>	55%	1,19 ± 2,04	1

**Tabella 3:** *Punteggi polmonari vs. M.hypopneumoniae (metodo Madec modificato)- studio 1.*

**Table 3:** *M.hypopneumoniae lung scores (modified Madec's method) – study 1.*

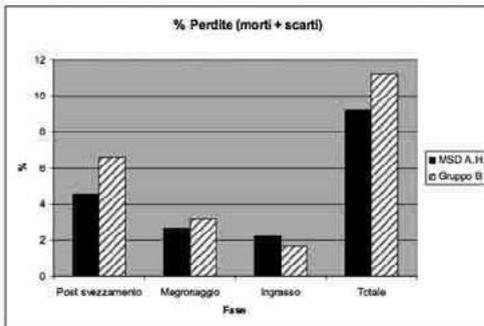


**Figura 3:** Punteggi polmonari nei confronti di *M.hypopneumoniae* (media  $\pm$  deviazione standard) dei 3 gruppi in prova (studio 1).

**Figure 3:** *M.hypopneumoniae* lung scores (Mean  $\pm$  SD) in the 3 trial's groups (study 1).

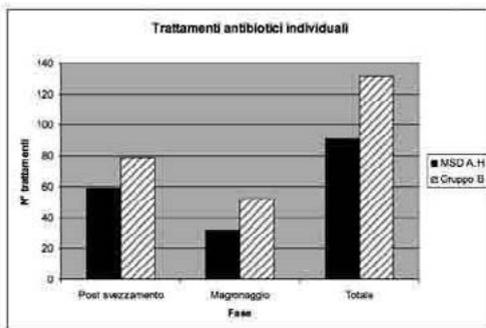
## Studio 2

Per quanto riguarda le perdite (morti + scarti) ed i trattamenti antibiotici per ognuna delle fasi di accrescimento i dati sono riportati di seguito (figure 4 e 5).



**Figura 4:** perdite nei due gruppi in prova (studio 2)

**Figure 4:** losses in the two trial's groups (study 2)



**Figura 5:** trattamenti antibiotici individuali (studio 2).

**Figure 5:** antibiotic treatments (nr. of treatments) in the two trial's groups (study 2)

Complessivamente le perdite sono state 18 su 196 nel gruppo MSD A.H. contro 22 su 196 del gruppo B, e i trattamenti antibiotici iniettabili sono stati 91 su 196 per MSD A.H. contro 131 su 196 del gruppo B. L'elaborazione statistica ha messo quindi in evidenza un rischio maggiore del 11% dei suini del gruppo B di incorrere nell'evento "perdita" e del 33,6% di subire almeno un trattamento antibiotico iniettabile, rispetto ai suini del gruppo MSD A.H.. Tale differenza è risultata significativa per quanto riguarda i trattamenti individuali (tab. 4).

	Risk Ratio	lower 95% CL	upper 95% CL	P-value	1 – Risk Ratio
<b>Perdite (<i>Losses: runts + dead pigs</i>)</b>					
<b>MSD A.H. / gruppo B</b>	0.88988	0.6221	1.272	0.617	+11.0%
<b>Trattamenti (<i>Treatments</i>)</b>					
<b>MSD A.H. / gruppo B</b>	0.6636	0.54487	0.80835	0.0001	+33.6%

**Tabella 4:** *Analisi dell'inferenza statistica tra i due gruppi in prova – studio 2.*

**Table 4:** *Inferential analysis between the 2 groups – study 2.*

In sede di macellazione sono stati valutati le lesioni polmonari sia relative a *M.hypopneumoniae* (griglia Madec modificata) sia relative a *A.pleuropneumoniae*.

Gruppo	Polmoni con lesioni <i>Myc-like</i>	Media ± DS	Mediana	Polmoni con pleurite	Indice APPI
MSD A.H. (M+PAC™ e Porcilis® PCV)	41,2%	0,61 ± 0,94	0	26,3%	0,37
B (altri vaccini mescolati)	55,3%	1,01 ± 1,32	1	39,4%	0,50

**Tabella 5:** *Punteggi polmonari vs. M.hypopneumoniae (metodo Madec modificato) e punteggio pleuriti - studio 2.*

**Table 5:** *Lung scores against M.hypopneumoniae (modified Madec's method) and pleurisy scores (APP index) – study2.*

Relativamente al punteggio polmonare per polmonite enzootica (Griglia Madec) è stata riscontrata una differenza significativa nella media di partita, tra i due gruppi ( $p < 0,05$ ).

Anche per quel che riguarda le lesioni pleuriche riferibili a precedenti infezioni da *A.pleuropneumoniae*, il gruppo MSD A.H. ha ottenuto un punteggio polmonare medio di partita e un indice APPI più basso del gruppo B, ma le differenze osservate sono risultate soltanto tendenziali ( $p < 0,10$ ),

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il protocollo dello studio 1, prevedendo la misurazione dei titoli anticorpali, ha permesso di riscontrare delle differenze nell'entità della risposta anticorpale umorale, risultata quantitativamente più elevata nei soggetti vaccinati con M+PAC<sup>TM</sup> e Porcilis® PCV, rispetto ai due vaccini analoghi ed al gruppo controllo.

Nello studio 2 sono state rilevate differenze a livello clinico e sanitario (mortalità totale e numero di soggetti scartati) tra il gruppo vaccinato con M+PAC<sup>TM</sup> e Porcilis® PCV, rispetto al gruppo vaccinato con un'associazione di due vaccini analoghi (gruppo B); in particolare i soggetti vaccinati con M+PAC<sup>TM</sup> e Porcilis® PCV hanno richiesto un numero significativamente inferiore di trattamenti antibiotici iniettabili ( $p < 0,05$ ). Questo risultato è in linea con quanto osservato, relativamente ai vaccini vs. il PCV2, in studi analoghi condotti in altri Paesi (8), dove la misurazione individuale dei pesi corporei ha permesso di evidenziare, oltre alle differenze nei risultati sanitari, anche delle differenze nelle performance dei vaccini per quanto riguarda gli incrementi ponderali. Relativamente alla componente *M. hyopneumoniae*, in entrambi gli studi è stata evidenziata un punteggio polmonare medio di partita inferiore nei soggetti vaccinati con M+PAC<sup>TM</sup>. Questa differenza è risultata statisticamente significativa nello studio 2 ( $p < 0,05$ ), in cui, inoltre, i suini del gruppo MSD A.H. hanno mostrato anche una minore prevalenza e gravità delle pleuriti croniche. L'esperienza che è possibile trarre dallo svolgimento di questi studi, in particolare per quanto riguarda la componente PCV2, è che non sempre è possibile riscontrare differenze nei risultati sanitari tra animali vaccinati e non vaccinati, e questo dipende dalla gravità delle infezioni, dalle condizioni ambientali e dal management dell'allevamento e addirittura dall'andamento delle patologie nel lotto in esame. Nello studio 1, infatti, la viremia da PCV2, è risultata tardiva e limitata nel tempo ed ha raggiunto al massimo un valore pari a circa  $10^{5,5}$  copie/ml, e questo probabilmente è stato uno dei fattori che non ha permesso di rilevare differenze significative nelle perdite dei 3 gruppi a confronto. Quanto si è verificato potrebbe anche essere dovuto al fatto che la vaccinazione è stata eseguita in due gruppi su 3, e questo avrebbe comunque diminuito la circolazione virale, proteggendo anche i soggetti non vaccinati, che sono stati allevati nei medesimi ambienti di quelli vaccinati.

In conclusione, questo studio ha permesso di evidenziare come i soggetti vaccinati con i vaccini MSD A.H., hanno mostrato dei titoli anticorpali umorali quantitativamente maggiori, un numero di trattamenti antibiotici iniettabili mediamente inferiore e minori lesioni polmonari al macello, in modo statisticamente significativo nel secondo studio.

## RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano la Dr.ssa Telma Tucci ed il Dr. Gianmaria Veronesi per avere partecipato all'esecuzione di questi studi di campo.

## BIBLIOGRAFIA

1. G. Merialdi, M. Dottori, P. Bonilauri, A. Luppi, S. Gozio, P. Pozzi, B. Spaggiari, P. Martelli (2011) *Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors*. The Veterinary Journal, Accepted 9 November 2011.
2. Dottori, M., Nigrelli, A.D., Bonilauri, P., Merialdi, G., Gozio, S., Cominotti, F. (2007) *Proposta per un nuovo sistema di punteggiatura delle pleuriti suine in sede di macellazione. La griglia SPES (Slaughterhouse Pleurisy Evaluation System)*. Large Animal Review 13, 161–165.

3. Alborali L. (2011) *Profili sierologici e PCR nei confronti di PRRSv e PCV2 nei suini in accrescimento ed ingrasso: dati aggiornati*. Simposio “Approccio integrato nei confronti del PRRSv e del PCV2 e recenti progressi nel controllo dei batteri respiratori”, Pozzolengo (BS), 13 settembre 2011. Atti del simposio disponibili presso gli Autori.
4. Dewey C.E., Vilaca K., Reidl M., De Grau F., Richardson K., Poljak Z. (2010) *Why PCV2 viremia matters to swine practitioners*. Proceedings 21<sup>st</sup> IPVS Symposium, Vancouver: O.250, page 282.
5. Eggen A. (2010) *Impact of PCV2 viraemia: Less virus, more profit*. Pig Progress 26(9): 13-15.
6. Ubeda J.L., Menjon R., Bollo J.M., Jimenez M. (2010) *Comparison of the serology of piglets vaccinated with Porcilis®PCV and an alternative PCV vaccine*. Proceedings 21<sup>st</sup> IPVS Symposium, Vancouver: P.095, page 401.
7. Marco E., Bollo J.M., Menjon R., Jimenez M. (2010) *Comparative humoral immunity response to vaccination with Porcilis®PCV, a second commercial vaccine und unvaccinated animals*. Proceedings 21<sup>st</sup> IPVS Symposium, Vancouver: P.109, page 415.
8. Ubeda J.L., Menjon R., Bollo J.M., Jimenez M., Lopez J.V., Rodriguez J. (2010) *Comparison of the efficacy of Porcilis®PCV and an alternative PCV-vaccine under field conditions*. Proceedings 21<sup>st</sup> IPVS Symposium, Vancouver: P.092, page 398.