

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**“CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL SOROLÓGICO DE NULÍPARAS SUÍNAS E DA
PROGÊNIE, FRENTE AO PARVOVÍRUS SUÍNO”**

Tese de Doutorado

Danielle Gava

PORTO ALEGRE

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**“CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL SOROLÓGICO DE NULÍPARAS SUÍNAS E DA
PROGÊNIE, FRENTE AO PARVOVÍRUS SUÍNO”**

Danielle Gava

Tese apresentada como requisito para a
obtenção do grau de Doutor em
Ciências Veterinárias na área de
Reprodução Animal e Virologia

PORTO ALEGRE

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DANIELLE GAVA

“CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL SOROLÓGICO DE NULÍPARAS SUÍNAS E DA
PROGÊNIE, FRENTE AO PARVOVÍRUS SUÍNO”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela comissão formada pelos doutores:

Prof. Dr. Ivo Wentz
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Geraldo Camilo Alberton
Membro da Comissão

Dra. Janice Reis Ciacci-Zanella
Membro da Comissão

Dr. Paulo Eduardo Bennemann
Membro da Comissão

PORTO ALEGRE

2011

Danielle Gava

**“CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL SOROLÓGICO DE NULÍPARAS SUÍNAS E DA
PROGÊNIE, FRENTE AO PARVOVÍRUS SUÍNO”**

Aprovada em 28 de março de 2011.

APROVADO POR:

Prof. Dr. Ivo Wentz

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Geraldo Camilo Alberton

Membro da Comissão

Dra. Janice Reis Ciacci-Zanella

Membro da Comissão

Dr. Paulo Eduardo Bennemann

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Aldo e Roza, pelo carinho, exemplo e empenho. Aos meus irmãos Felipe e Fernando e ao Eduardo, pela amizade acima de tudo, amor, paciência e compreensão.

Ao meu orientador Professor Ivo Wentz, aos co-orientadores Professores Cláudio Wageck Canal e Fernando Pandolfo Bortolozzo, à Professora Mari Lourdes Bernardi e ao Professor David Barcellos, pela idealização e apoio na elaboração deste estudo; pelos ensinamentos, e principalmente pela amizade, estímulo e paciência, que contribuíram para meu amadurecimento pessoal e profissional.

Aos colegas com quem convivi e aos amigos que fiz nestes quatro anos, mesmo parte à distância, no Setor de Suínos e no Laboratório de Virologia, agradeço pela ajuda e amizade. À Ana Maria Groehs Goldberg, André Felipe Streck, Carine Kunzler Souza, Laura Espíndola Argenti, Mônica Santi, Neimar Bonfanti Gheller e Tiago José Morés pelas trocas de conhecimento e bons momentos que compartilhamos. Em especial às amigas-irmãs Fabiana Boabaid, Francielli Cordeiro Zimmermann e Nádia Aline Bobbi Antoniassi, pelo grandioso convívio e amizade.

Aos veterinários e funcionários da unidade comercial da granja na qual o projeto foi executado, permitindo que os dados obtidos tornassem informações aplicáveis à suinocultura. À equipe de execução do experimento (Laura Espíndola Argenti e Tiago José Morés) que auxiliaram integralmente no acompanhamento e obtenção dos dados.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro (doutorado e doutorado-sanduíche), permitindo que o projeto fosse desenvolvido e conhecimentos fossem adquiridos.

Ao USDA - ARS - National Animal Disease Center (NADC - Ames - IA - EUA) e à Embrapa Suínos e Aves, pela oportunidade de aprendizagem durante cinco meses, na qual pude vivenciar uma realidade distinta na pesquisa, focada ao desenvolvimento e promoção sanitária da suinocultura.

Por fim, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), que serviu de base para a aquisição de conhecimento, vivência e compartilhamento de idéias.

À todas as pessoas que, de forma direta ou indireta, colaboraram nesta caminhada, obrigada.

“Não sabendo que era impossível, foi lá e fez”. (Jean Cocteau)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
RESUMO	10
<i>ABSTRACT</i>	12
1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 Gerais	16
2.2 Específicos	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 Sistemas de reposição de nulíparas	17
3.1.1 <i>A importância da nulípara</i>	17
3.1.2 <i>Sistema de reposição interna</i>	19
3.1.3 <i>Sistema de aquisição a partir de granjas multiplicadoras</i>	20
3.1.4 <i>Sistema de criação de nulíparas em unidades separadas</i>	20
3.1.4.1 <i>Quarto sítio</i>	21
3.1.4.2 <i>Quinto sítio</i>	21
3.2 Imunidade passiva	22
3.2.1 <i>Imunoglobulinas</i>	24
3.3 Parvovírus suíno	25
3.3.1 <i>Classificação e caracterização do vírus</i>	25
3.3.2 <i>Epidemiologia e patogenia</i>	27
3.3.3 <i>Manifestações clínicas e lesões</i>	30
3.3.4 <i>Diagnóstico</i>	32
3.3.5 <i>Controle</i>	34
4. ARTIGOS	36
4.1 Artigo 1- “Atualização sobre a parvovirose na suinocultura”.....	36
4.2 Artigo 2- “Relationship between porcine parvovirus antibody titers in serum and colostrum from vaccinated sows, and duration of passive immunity in their suckling pigs” ..	48
4.3 Artigo 3- “Caracterização do nível de anticorpos para parvovírus suíno associado ao perfil reprodutivo em fêmeas suínas de diferentes sistemas de reposição”.....	68

4. DISCUSSÃO GERAL	82
5. CONCLUSÕES	84
6. REFERÊNCIAS.....	85

LISTA DE TABELAS

TRABALHO 2

Table 1- Distribution of each sample collection, total number of animals and percentage of positive and negative on ELISA test for PPV.....64

Table 2- Descriptive statistics for OD (ELISA test), mummified fetus (MM), stillbirths (ST), born alive (BA) and total born (TB), comparing 68 females in the first farrow (1) and second (2) farrow.....65

TRABALHO 3

Tabela 1- Média seguido pelo desvio padrão (DP) da densidade ótica apresentada no teste de ELISA nos três diferentes sistemas de reposição.....80

Tabela 2- Distribuição dos parâmetros reprodutivos (NT, NV, NM e MM) de acordo com o sistema de reposição.....81

LISTA DE FIGURAS

TRABALHO 2

Figure 1- Decay of passive immunity in piglets. The black square (■) indicates the moment in days which each sample were collected (prior to initial colostrum intake, 7, 21, 57, 87 and 128 day-old), according to the positive percentage on ELISA test.....66

Figure 2- Half-life of piglets PPV antibodies analyzed between 0 to 128 day-old.....67

RESUMO

“Caracterização do perfil sorológico de nulíparas suínas e da progênie, frente ao parvovírus suíno¹”

Autor: Danielle Gava

Orientador: Prof. Dr. Ivo Wentz

Co-orientador: Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal

Prof. Dr. Fernando Pandolfo Bortolozzo

O parvovírus suíno (PPV) apresenta grande importância, principalmente em fêmeas não-imunes, por causar perdas reprodutivas significativas. O primeiro trabalho foi desenvolvido sobre forma de revisão, e serviu como base para realização dos estudos seguintes. O segundo trabalho foi conduzido para determinar a resposta de anticorpos para PPV em 127 leitões após a vacinação, avaliar a transferência de imunidade passiva e estimar a queda de anticorpos colostrais para PPV na leitegada. Foi realizada coleta de sangue nas leitões em: (A) antes da primeira vacinação para PPV, (B) após a segunda dose; (C) no parto e (D) durante a segunda gestação. Além disso, colostro também foi coletado (E). Três leitões de cada fêmea foram selecionados e amostras de sangue foram coletadas: antes de mamar o colostro, 7, 21, 57, 87 e 128 dias de idade, a fim de verificar o declínio da imunidade passiva e estimar a meia-vida de anticorpos para PPV. O número de fetos mumificados, natimortos, nascidos vivos e nascidos totais do primeiro e segundo parto foram analisados. Os anticorpos para PPV foram testados por inibição da hemaglutinação (HI) e enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), a fim de verificar a concordância entre estes dois métodos. A possível associação entre os títulos de anticorpos das fêmeas e dos leitões no soro e no colostro com os dados reprodutivos também foi investigada. A maioria das fêmeas (85,83%) tiveram anticorpos para PPV antes da vacinação, mas depois da vacina, todas as fêmeas soroconverteram. Aos sete dias de idade a maioria dos leitões apresentaram anticorpos para PPV e em torno dos 57 dias de idade somente 35,29% dos leitões eram positivos, alcançando a nulidade de anticorpos para PPV aos 87 dias de idade. A meia-vida estimada dos anticorpos colostrais foi 29,80 dias. A correlação entre o soro dos leitões e da fêmea no momento do parto foi $r=0,77$ ($P<0,001$) e com o colostro o valor de r foi 0,72 ($P<0,001$). A concordância entre os testes de ELISA e HI foi moderada (Spearman's $\rho=0,89$ e $R^2=0,67$). Houve diferença somente no número de mumificados entre o primeiro e segundo parto ($P<0,001$). O terceiro trabalho objetivou avaliar o perfil de anticorpos para PPV em diferentes sistemas de reposição de leitões, correlacionando com dados reprodutivos. Cento e cinquenta

nulíparas com duas doses de vacina para PPV foram selecionadas de três sistemas de reposição diferentes: quarto sítio - A (n=36), granja receptora do quarto sítio - B (n=57) e granja multiplicadora - C (n=57). Os anticorpos para PPV foram medidos utilizando um teste de ELISA. Houve diferença entre as três granjas com relação ao título de anticorpos ($P < 0,05$). Ao comparar os dados reprodutivos entre as granjas, houve diferença entre elas no número de nascidos totais e nascidos vivos, mas não foi observada diferença no percentual de natimortos e de mumificados ($P > 0,05$). A correta preparação da leitoa, objetivando a proteção no momento da cobertura é fundamental para alcançar bom desempenho reprodutivo, independente do sistema de reposição utilizado.

Palavras chave: Parvovírus suíno, PPV, queda da imunidade, perfil de anticorpos, leitoa, sistemas de reposição.

¹ Tese de doutorado em Ciências Veterinárias
Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias
Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre, Março de 2011.

ABSTRACT**“Serological characterization of gilts and progeny, under Porcine Parvovirus¹”**

Author: Danielle Gava

Advisor: Prof. Dr. Ivo Wentz

Co-advisors: Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal

Prof. Dr. Fernando Pandolfo Bortolozzo

Porcine parvovirus (PPV) has a great importance because causes significantly reproductive losses, mainly in non-immune gilts. The first study was developed as a review, and served as a basis to carry out the following studies. The second study was conducted to determine the antibody response for PPV of 127 gilts in field conditions after vaccination, to evaluate the transfer of passive immunity and to estimate the decay of acquired colostral antibodies to PPV in the littermate. Gilts were bled at: (A) before the first vaccination to PPV, (B) after the second dose; (C) at farrowing and (D) during the second pregnancy. Added to these, colostrum was also collected (E). Three piglets of each gilt were selected and blood samples were collected: prior to initial colostrum intake, 7, 21, 57, 87 and 128 day-old, in order to verify the decrease of passive immunity and estimate the half-life of PPV antibodies. The number of mummified fetus, stillbirths, born alive and total born were analyzed from first and second parturition. The PPV antibodies were tested both with haemagglutination inhibition (HI) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in order to study the agreement between these methods. The possible association between gilts and piglets antibody titers in serum and colostrum with reproductive data was also investigated. Most gilts (85.83%) had antibodies to PPV before vaccination, but after vaccine, all gilts seroconverted. At 7 day-old most part of piglets had PPV antibodies and around 57 days-old only 35.29% of piglets were positive, reaching the PPV antibodies nullity at 87 days-old. The estimated average half-life of acquired colostral antibodies was 29.80 days. The correlation between piglets serum with gilt serum at farrowing time was $r=0.77$ ($P<0.001$) and with colostrum the r value was 0.72 ($P<0.001$). The agreement between ELISA and HI tests was moderate (Spearman's $\rho=0.89$ and $R^2=0.67$). The only difference between first and second parturition was observed on mummified fetuses ($P<0.001$). The objective of the third study was to evaluate the PPV antibodies profile in different gilts replacement systems, correlating with reproductive data. A hundred and fifty gilts with two doses of

PPV vaccine were selected from three different gilts replacement systems: Fourth site - A (n=36), fourth site receiver herd - B (n=57) and a farm producing dam lines - C (n=57). The PPV antibodies were measured by an ELISA test. There were a difference on antibody titers among the three herds ($P<0.05$). When we compared the reproductive data among herds, there were difference on total born and born alive, but this difference was not observed on the percentual of stillbirths and mummified ($P>0.05$). The correct gilt preparation, aiming the protection on mating time is fundamental to reach a great reproductive performance, independent of the replacement gilt system used.

Key words: Porcine parvovirus, PPV, immunity decay, antibody profile, gilt, replacement systems.

¹ Doctoral Thesis in Veterinary Sciences
Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias
Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre, March, 2011.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um importante produtor mundial de alimentos e o agronegócio é um dos principais segmentos da economia nacional. Atualmente o Brasil é o quarto maior produtor e também o quarto maior exportador de carne suína (ABIPECS, 2010). O número de animais abatidos por matriz alojada aumentou 12,5% nos últimos três anos, com o número de suínos terminados passando de 19,2 para 21,6 por matriz ao ano (ABIPECS, 2010). Entretanto, para manter a competitividade no mercado é preciso cuidar especialmente da sanidade das criações comerciais e, neste cenário, as doenças virais são preocupações constantes. Programas de biossegurança, medidas de manejo e técnicas laboratoriais eficientes para diagnóstico de enfermidades são essenciais para manutenção da segurança sanitária na suinocultura tecnificada (BARCELLOS et al., 2008).

Atualmente, as principais doenças que afetam os rebanhos suínos são multifatoriais e virais, acarretando, principalmente, em redução no desempenho e aumento dos custos de produção (MORAES e COSTA, 2007; ROEHE et al., 2007). Dentre estes agentes, o parvovírus suíno (PPV) possui grande importância econômica, pois propicia a redução do desempenho reprodutivo, caracterizado principalmente por morte embrionária com reabsorção seguida de retorno ao estro ou leitegadas pequenas, fetos mumificados e natimortos (MENGELING, 1999; ROEHE et al., 2007).

O PPV é um vírus que causa problemas reprodutivos em fêmeas suínas, com grande impacto, principalmente em nulíparas. Apesar de, usualmente, a infecção ser subclínica em suínos adultos, sua importância deve-se à capacidade de infecção transplacentária, levando à morte dos embriões e fetos (JOHNSON e COLLINGS, 1971; MENGELING, 1999; ROEHE et al., 2007). A determinação do perfil sorológico do rebanho antes da vacinação é de grande valia, apesar de não ser utilizada na prática, pois a partir desta, medidas direcionadas de prevenção podem ser realizadas, diminuindo o impacto da enfermidade no plantel.

O teste sorológico de referência para PPV é a prova de inibição da hemaglutinação (HI), embora seja um teste barato e de fácil aplicação, a ausência de padronização da técnica determina dificuldade de interpretação e comparação dos resultados entre diferentes laboratórios. O teste de *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) é mais rápido, prático e pode ser standardizado, além dos equipamentos para a sua execução estarem presentes na maioria dos laboratórios da agroindústria (HORWITZ, 1996; MORAES e COSTA, 2007).

Além da sorologia como ferramenta de monitoria para auxiliar a minimizar o impacto desta virose e de outras enfermidades que afetam a suinocultura, novos sistemas de aquisição de fêmeas

de reposição têm sido propostos (BRANDT e LIMA, 2005; MOORE et al., 2005; BRANDT, 2007). Considerando que a principal forma de disseminação de patógenos é através do contato direto entre animais, a reposição representa um ponto crítico na biossegurança das granjas, devido aos riscos sanitários envolvidos. A disseminação de novos patógenos no ambiente pode gerar um desequilíbrio na microbiota já existente, precipitando o aparecimento de doenças que se encontram latentes no rebanho. Por outro lado, o novo ambiente também oferece riscos aos animais de reposição, especialmente aos oriundos de granjas com baixo desafio sanitário (MORÉS et al., 1999).

Dentre os sistemas de reposição, destacam-se o quarto sítio e o quinto sítio, que objetivam a produção de nulíparas em unidades ou sítios separados. Estes sistemas de preparação de nulíparas visam aprimorar o manejo da cobertura, maximizando os índices reprodutivos e sanitários desta categoria (ANTUNES, 2007; BRANDT, 2007; WENTZ et al., 2007). Como estas formas de aquisição estão se difundindo em diversos países, inclusive no Brasil, e não há nenhum relato do perfil sorológico destas fêmeas, sugere-se a avaliação deste perfil para PPV em comparação com o sistema de reposição interna de nulíparas.

Outro ponto importante a ser avaliado é a capacidade de resposta mediante vacinação e consequente transmissão e duração da imunidade à progênie. Faz-se necessário também o acompanhamento clínico destas fêmeas, bem como avaliação da correlação dos dados reprodutivos com o perfil sorológico para PPV. Assim, o presente trabalho pretende contribuir para o estudo epidemiológico, diagnóstico e controle da infecção pelo PPV no Brasil.

2. OBJETIVOS

2.1 Gerais

1. Caracterização sorológica de nulíparas suínas para o PPV e correlação do perfil reprodutivo nos diferentes sistemas de reposição.
2. Determinação da duração da imunidade passiva para o PPV da progênie de nulíparas suínas.

2.2 Específicos

1. Avaliar a soroconversão para PPV pela técnica de ELISA, em nulíparas.
2. Avaliar a presença do antígeno pela técnica de “nested-PCR” e PCR em tempo real.
3. Relacionar o perfil de anticorpos para PPV no soro e no colostro de nulíparas suínas.
4. Acompanhar o declínio dos anticorpos maternos para PPV na progênie de nulíparas, pelo teste de ELISA.
5. Correlacionar o teste de ELISA com o teste de HI para detecção de anticorpos para PPV.
6. Determinar o perfil de anticorpos para PPV e correlacionar com o perfil reprodutivo, em nulíparas suínas, provenientes de diferentes sistemas de reposição.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Sistemas de reposição de nulíparas

3.1.1 A importância da nulípara

A rentabilidade de um sistema de produção está diretamente relacionada com o desempenho reprodutivo das fêmeas que compõem o plantel de reprodutoras, incluindo as nulíparas. A reposição das matrizes é uma prática obrigatória, sendo um processo importante para a evolução do rebanho, pois possibilita a maximização dos ganhos produtivos através da melhoria genética dos animais.

As taxas de reposição anuais praticadas na suinocultura tecnificada estão entre 35 e 50%, e as nulíparas representam 8% a 10 % do plantel de matrizes, totalizando 17% a 21% no grupo de parição (KIRKWOOD e THACKER, 1992; MORRISON et al., 2002; BORTOLOZZO e WENTZ, 2006). No caso de reposição interna, este índice eleva-se, ficando em torno de 25%. Contudo, é importante que haja uma concentração de 50% a 70% do plantel com fêmeas de segundo até sexto parto (BORTOLOZZO e WENTZ, 2006; ANTUNES, 2007). Cabe ressaltar que estes valores não são fixos, variam de acordo com as peculiaridades de cada granja, como taxa de mortalidade, política de descarte e do momento econômico da suinocultura. Entretanto, a distribuição uniforme do percentual de participação por ordem de parto deveria ser mantida, pois desequilíbrios poderão implicar em um melhor ou pior desempenho reprodutivo da granja. No ano de 2009/2010, a taxa de reposição média das granjas brasileiras foi 47,5%, sendo que a média de desmamados por fêmea ao ano foi 25,92 (AGROCERES PIC - PIG CHAMP, 2010). O fato de existirem diferenças entre estas taxas em sistemas que possuem instalações, genética e nutrição similares, indica que a qualidade do manejo assume um papel importante nestes índices.

A exigência pela maximização destes números exigiu mudanças no modelo de produção e a partir da garantia de ações básicas, o foco voltou-se ao cumprimento de alguns detalhes da cadeia com uma atenção muito maior à qualidade da nulípara. O manejo reprodutivo e sanitário inadequado até o momento da primeira inseminação resulta em baixo número de leitões nascidos no primeiro parto e nos subsequentes, atraso no intervalo desmame-estro após a primeira lactação e uma vida produtiva mais curta (MORÉS et al., 1999; WENTZ et al., 2007). Desta forma, uma boa preparação da nulípara, com manejo correto desde o nascimento, leva ao maior tempo de

permanência no plantel, refletindo em um incremento na produtividade (KIRKWOOD e THACKER, 1992; FOXCROFT e AHERNE, 2001).

Fatores como a produtividade e os aspectos reprodutivos são os que interferem diretamente no número de leitões produzidos. Dentre os que influenciam o número de leitões nascidos destacam-se: o número de ovulações, a taxa de fecundação e as perdas gestacionais (morte embrionária e fetal). Atualmente, é possível alcançar um valor médio de 16 a 18 ovulações na nulípara, o que poderia resultar em 11 a 12,5 leitões nascidos vivos, considerando perdas após a ovulação de 5% na taxa de fecundação, mortalidade embrionária de 20%, mortalidade fetal de 5% e natimortalidade de 5% (MORRISON et al., 2002; BORTOLOZZO e WENTZ, 2006).

A realidade de alta tecnologia está presente na rotina das granjas com manejos e ferramentas de ponta que, aliadas à criatividade do produtor, aumentam ainda mais as médias de produção. Entretanto, o grande desafio sanitário do início da década de 2000, marcado principalmente pela infecção pelo circovírus suíno tipo 2 (PCV2), exigiu reflexões a respeito da suinocultura no modelo atual e futuro em relação ao potencial de produção (CIACCI-ZANELLA e MORÉS, 2000; CIACCI-ZANELLA e MORÉS, 2003). Assim como patologias até então mantidas sob controle ou de pouca importância voltaram a ser problemas nos rebanhos, alguns detalhes na produção também considerados ultrapassados ganharam valor e novas exigências surgiram, associando o potencial de produção e a estrutura ou modelo da suinocultura. Nesta diversidade de produção de uma mesma espécie, o desafio técnico de produção exige a busca de alternativas na condução de sistemas sócio-políticos e ambientais corretos.

A substituição das matrizes pode ser feita de duas formas: através da produção de nulíparas na própria granja ou da compra das nulíparas de reposição. No caso de reposição interna, as nulíparas são produzidas a partir de um plantel de avós ou bisavós mantido dentro da granja. Entretanto, a forma mais usual é através de aquisição de nulíparas a partir de granjas especializadas, denominadas granjas multiplicadoras. Além disto, atualmente também é possível adquirir nulíparas prenhes de uma unidade denominada quarto sítio ou adquirir fêmeas primíparas, de uma unidade denominada quinto sítio (FOXCROFT e AHERNE, 2001; BORTOLOZZO e WENTZ, 2006).

Não existe uma regra a ser seguida para escolha do sistema de reposição mais conveniente, pois os aspectos envolvidos são complexos e a viabilidade varia de acordo com o perfil de cada unidade. Dentre os fatores relevantes incluem-se os econômicos, genéticos e sanitários. Neste aspecto, a quarentena e a adaptação à microbiota da granja receptora são ferramentas fundamentais neste processo, pois possibilita uma aproximação do nível de saúde e imunidade entre as nulíparas

introduzidas e o rebanho de destino (MORÉS et al., 1999; BARCELLOS et al., 2007; BARCELLOS et al., 2008).

Vários sistemas de produção têm sido propostos a fim de maximizar o benefício da resposta imune passiva para diminuir a transmissão de agentes causadores de doenças, permitir trabalho especializado em cada fase de produção, simplificar a logística, maximizar o desempenho reprodutivo e aperfeiçoar a produção de suínos. Entretanto, a alta taxa de reposição, associada à facilidade de aquisição de animais, favorece a disseminação de patógenos entre os rebanhos suínos, tornando a manutenção da saúde do plantel um desafio aos produtores (KIRKWOOD e THACKER, 1992; FOXCROFT e AHERNE, 2001).

3.1.2 Sistema de reposição interna

Os produtores que optam por este sistema devem ter consciência de que são necessários alguns quesitos básicos para alcançar o sucesso almejado. A manutenção de dois programas distintos (produção de nulíparas de reposição e de animais para terminação) dentro de uma mesma granja não é uma tarefa fácil, pois requerem planejamento, instalações e manejo diferenciados em ambos os grupos (BORTOLOZZO e WENTZ, 2006).

As nulíparas de reposição são originadas de cruzamentos entre animais de linhagem materna, de raças puras ou híbridas, chamadas avós e/ou bisavós, consideradas de alto valor genético e econômico. Uma seleção rigorosa das nulíparas é imprescindível para obter o desempenho almejado e proporcionar a evolução genética do plantel. Os animais são selecionados para diversas características, onde devem apresentar taxa de crescimento moderada, aparelho mamário com, no mínimo sete pares de tetos e bom espaçamento entre eles, bom desenvolvimento vulvar e boa qualidade do aparelho locomotor e aprumos (FOXCROFT et al., 2004). As nulíparas de reposição necessitam de manejo cuidadoso para poder obter máximo desempenho e longevidade. As condições de alojamento e arraçamento devem ser diferenciadas, com o objetivo de atingir peso, taxa de crescimento, composição corporal e longevidade desejados (FOXCROFT e AHERNE, 2001; FOXCROFT et al., 2004; WENTZ et al., 2007).

Essa forma de reposição oferece algumas vantagens com relação à aquisição de nulíparas. O benefício mais expressivo deste sistema está relacionado ao aspecto sanitário/biossegurança, pois o número de animais novos introduzidos no plantel pode ser reduzido em até dez vezes (BORTOLOZZO e WENTZ, 2006). Esta redução é responsável pela estabilidade sanitária do

mesmo, diminuindo a introdução e disseminação de agentes infecciosos entre fêmeas em reprodução. Além disto, também apresenta vantagem no manejo, já que as fêmeas não necessitam de um período de quarentena/adaptação, uma vez que nascem e se desenvolvem dentro da unidade onde serão reprodutoras. A principal desvantagem deste sistema está relacionada basicamente com a redução no ganho genético em função do tempo, por a introdução de material genético dá-se quase que na maioria pelo macho. Outros fatores interferem na viabilidade do programa, como uso de inseminação artificial ou monta natural; taxa de reposição anual de fêmeas e machos; número de leitões desmamados por fêmea ao ano, mortalidade na maternidade e pós-desmame (FOXCROFT et al., 2004; BORTOLOZZO e WENTZ, 2006).

3.1.3 Sistema de aquisição a partir de granjas multiplicadoras

Este sistema consiste na aquisição de nulíparas a partir de granjas especializadas. A vantagem deste tipo de reposição é a seleção de alta qualidade. É recomendado que as fêmeas sejam transferidas para a granja de destino com idade entre 140 e 160 dias de idade, para que ocorra um período de quarentena, adaptação e bom manejo de indução ao estro (BORTOLOZZO e WENTZ, 2006; BARCELLOS et al., 2007). O manejo realizado antes da primeira cobertura é fundamental para um bom desempenho reprodutivo ao primeiro parto (FOXCROFT et al., 2004; BORTOLOZZO e WENTZ, 2006).

A adoção de alguns critérios na aquisição de nulíparas visa minimizar a entrada de agentes infecciosos no rebanho, favorecendo a estabilização do nível sanitário da granja. Isto pode ser feito baseado na certificação preconizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no qual os animais devem ser livres de peste suína clássica, doença de Aujeszky, brucelose, tuberculose, sarna e leptospirose (livre ou controlada), além de certificação opcional para outras doenças (MAPA, 2002). A ocorrência de enfermidades pode acarretar em falhas reprodutivas, comprometendo o desempenho de todo o plantel a curto e longo prazo. Nulíparas que apresentam nível de saúde semelhante ao plantel residente enfrentam menos desafios infecciosos e adoecem menos, resultando em menores perdas gestacionais (HEUSER, 1999). Além disto, o adequado manejo sanitário da nulípara reduz o uso de medicações e vacinas.

3.1.4 Sistema de criação de nulíparas em unidades separadas

A grande evolução da suinocultura nos últimos 20 anos proporcionou alternativas com diferenciação e especialização de atividades por categoria animal. Neste sentido um maior rigor na categorização do rebanho de fêmeas e de leitões pode aumentar os ganhos de produtividade.

3.1.4.1 Quarto sítio

O quarto sítio trata-se de um modelo de produção especializado na preparação de nulíparas, abrangendo a fase de indução de puberdade, manejos sanitários, diferenciação de nutrição e manejo reprodutivo, culminando com a entrega das fêmeas a partir dos 40 dias de gestação (BRANDT e LIMA, 2005; BRANDT, 2008).

As granjas que optam por adquirir fêmeas deste sistema de reposição reduzem as possíveis perdas que ocorrem desde a cobertura até o parto, uma vez que recebem as nulíparas após o período que ocorrem as principais perdas gestacionais. Ao comparar os dados reprodutivos entre nulíparas adquiridas pelo sistema convencional e nulíparas adquiridas gestantes, as fêmeas do quarto sítio apresentaram um aumento de 0,1 leitão nascido vivo e 11,9% na taxa de parto ajustada, além de um decréscimo de 8,3% na taxa de retorno ao estro, 0,6% na taxa de abortamentos e 0,8% no número de natimortos (CAMPRODON et al., 1999). Por sua vez, Brandt (2008) ao comparar dados de granjas brasileiras, também evidenciou aumento na taxa de parto, além de possibilidade de estabilização da produção devido ao melhor aproveitamento das fêmeas provenientes do quarto sítio.

Esta forma de aquisição ainda permite uma reposição por demanda, além de favorecer a ocupação das instalações por outras categorias, incrementando em até 8% a quantidade de fêmeas produtivas no plantel. Este sistema também pode auxiliar na qualidade sanitária e reprodutiva do plantel, por alojar somente fêmeas vacinadas e com gestação comprovada. Em contrapartida, o custo para aquisição é maior, e mesmo estando vacinadas, uma adaptação das fêmeas no plantel de destino é necessária (BRANDT e LIMA, 2005; BRANDT, 2008).

3.1.4.2 Quinto sítio

A associação das vantagens do quarto sítio com a produção através de partos segregados leva a possibilidade de se trabalhar com um novo modelo de produção, o quinto sítio. No quinto

sítio aliam-se as vantagens reprodutivas das matrizes com os ganhos sanitários do produto na creche, recria e terminação (BRANDT, 2007; 2008).

A diferença de produtividade de leitões filhos de primíparas também leva a uma possibilidade de categorização de granjas de recria por ordem de parto (OP). A criação de granjas com partos segregados permite a manutenção de dois estados sanitários distintos nos rebanhos, um mais sensível e por isso mais exigente, originado dos filhos de primíparas e outro mais resistente, procedente de leitões originados por fêmeas de $OP \geq 2$. Com esta segregação passa-se a trabalhar com cinco categorias diferentes de animais, ou seja, plantel de nulíparas (quarto sítio), plantel de fêmeas com OP 1 (gestação, parição e nova gestação), plantel de fêmeas com $OP \geq 2$ (gestação e parição), e respectivas produções de leitões dos dois plantéis (MOORE et al., 2005; BRANDT, 2008).

Este modelo possui como principal vantagem uma melhor preparação das nulíparas, proporcionando uma otimização no desempenho das primíparas. Com a adoção deste sistema, pode-se manejar com maior eficiência um programa nutricional e reprodutivo definido por categoria, além da formação de lotes específicos por categorias, o que proporciona melhor gestão sanitária (MOORE et al., 2005; BRANDT, 2007).

Da mesma forma que o modelo de produção de quarto sítio, o quinto sítio necessita logística, mercado específico e garantido para manutenção da cadeia através da entrega ou suprimento de animais por demanda. São sistemas mais especializados, e visam, além das vantagens reprodutivas, a qualidade sanitária dos rebanhos.

3.2 Imunidade passiva

O sistema imune é o responsável pela elaboração da resposta imunológica, composta por mecanismos de defesa específicos e inespecíficos, que visam combater o agente agressor. Após identificar os invasores, o sistema imune, principalmente através dos linfócitos, tenta neutralizar os efeitos prejudiciais das moléculas isoladas e destruir os microorganismos (TIZARD, 2002). Os linfócitos são agrupados em duas populações principais: linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos (imunidade humoral), e linfócitos T, responsáveis pela resposta imune mediada por células (imunidade celular). A imunidade humoral mediada por anticorpos, produzidos pelos plasmócitos, representa um dos mecanismos mais eficientes de defesa do organismo animal diante de um determinado antígeno (BOURNE, 1976; TIZARD, 2002). Na espécie suína, foram descritas

quatro classes de imunoglobulinas (Igs) - IgM, IgG, IgA e IgE - sendo as três primeiras mais conhecidas e importantes. A IgG é a única que apresenta subclasses, que são: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgG5 e IgG; e a IgA ocorre na forma monomérica ou dimérica (BUTLER et al., 2009). A imunidade celular por sua vez, é mediada por linfócitos T auxiliares (Th - CD4⁺) e linfócitos T citotóxicos (Tc - CD8⁺). Os Th secretam várias citocinas, que estimulam a atividade de outras células envolvidas na resposta imunológica. Os linfócitos Tc reconhecem e destroem células infectadas e também secretam algumas citocinas. Esses mecanismos envolvidos na imunidade específica (humoral e celular) são complementares e atuam conjuntamente no combate às infecções víricas (TIZARD, 2002; BUTLER et al., 2009; SALMON et al., 2009).

Os fetos suínos estão muito bem protegidos da estimulação antigênica externa, em função da característica epitélio-corial da placenta materna, na qual seis camadas de tecidos separam a circulação materna da fetal. Essa barreira física de proteção, no entanto, impede a transferência de Igs da mãe para o feto via placenta; assim, o leitão nasce hipo ou agamaglobulinêmico, sendo extremamente dependente da aquisição de imunidade passiva (SALMON, 1984; SALMON et al., 2009). Essa imunidade é conferida pela ingestão de Igs colostrais; além disto, fagócitos (neutrófilos e macrófagos), linfócitos (B e T), células epiteliais, dentre outros, também são passivamente adquiridos e podem contribuir para a imunidade do leitão recém-nascido (EVANS et al., 1982; GASKINS e KELLEY, 1995; SALMON, 1999). Desta forma, o colostro e leite são importantes fontes nutricional e sanitária ao leitão, fornecendo alimento, água, proteção imunitária e fatores regulatórios (AUMAITRE e SEVE, 1978; WAGSTROM et al., 2000; BAILEY et al., 2005).

Os leitões podem adquirir essa imunidade passiva recebendo anticorpos da mãe via colostro principalmente nas primeiras 24 a 36 horas após o nascimento. O desenvolvimento e as alterações que ocorrem no intestino de recém-nascidos influenciam a aquisição de anticorpos maternos e a absorção máxima de Igs ocorre de 4 a 12 horas após o nascimento, declinando rapidamente após esse período devido à diminuição da permeabilidade intestinal (BROWN et al., 1961; BUTLER et al., 1981; GASKINS e KELLEY, 1995). A sobrevivência do leitão não depende somente da ingestão dessas macromoléculas, mas também da sua própria capacidade para utilizá-las, reagindo rapidamente a um desafio. Essa capacidade de reação do leitão, no entanto, é bastante limitada, principalmente em virtude da imaturidade do sistema imunológico, que passa por mudanças nas primeiras semanas de vida, incluindo o aumento do número circulante de neutrófilos e aumento da habilidade de resposta aos estímulos externos (BAILEY et al., 2005; BUTLER et al., 2009).

A presença de anticorpos passivos no soro dos leitões suprime a produção de anticorpos endógenos, e o nível de supressão parece ser diretamente proporcional à quantidade de anticorpos adquiridos (WILSON, 1974; KLOBASA et al., 1981; BOERSEMA et al., 1998). Entretanto, apesar da formação de anticorpos contra antígenos específicos ocorrer somente após a queda de anticorpos passivos, a indução de memória acontece na presença destes (BOERSEMA et al., 1998; TIZARD, 2002). Esta barreira formada pela imunidade passiva diminui com o passar do tempo, e ocorre em períodos diferentes para cada agente infeccioso. De um modo geral, os títulos de anticorpos colostrais permanecem altos até cerca de duas a três semanas de idade, e a infecção do leitão por diferentes patógenos ocorre principalmente a partir do momento da queda da imunidade passiva, na ausência de anticorpos protetivos (WILSON, 1974; BOURNE, 1976; SALMON, 1999; BUTLER et al., 2009).

Deve-se considerar ainda, que o processo de imunidade passiva é resultado de desafios imunológicos que a mãe sofreu, sejam eles oriundos de vacinação ou exposição à patógenos. Assim, porcas mais velhas tendem a produzir colostro com maior concentração e melhor padrão qualitativo de Igs, se comparadas às primíparas (KLOBASA et al., 1985; KLOBASA et al., 1987a). Ao comparar a transferência de IgA e IgG via colostro, entre primíparas e fêmeas OP 3, as fêmeas OP 3 apresentaram maior quantidade de Igs no colostro e no soro da progênie, e os leitões, filhos de fêmeas OP 3, tiveram menor taxa de mortalidade na creche e maior ganho de peso (BURKEY et al., 2008). Apesar destas diferenças, de um modo geral, os níveis de Igs no colostro podem ser até três vezes maiores que aqueles encontrados no soro das fêmeas, e os níveis de Igs no soro dos leitões podem ser maiores que os encontrados no soro das mães (SIMPSON-MORGAN e SMEATON, 1972; BOURNE e CURTIS, 1973).

3.2.1 Imunoglobulinas

A composição de Igs no colostro difere consideravelmente do leite. Altas concentrações de Igs (IgM, IgG e IgA) são encontradas nas primeiras amostras de colostro após o parto. Quase 100% de IgG, 85% de IgM e 40% de IgA presentes no colostro são derivadas do soro da fêmea (BOURNE, 1976; SALMON et al., 2009), já no leite, 70% de IgG e 90% de IgM e IgA são sintetizadas localmente na glândula mamária (BOURNE e CURTIS, 1973). A presença de IgA pode ser devida tanto ao transporte de IgA monomérica ou dimérica pelo sangue, quanto pela migração

de células B sensíveis à IgA na glândula mamária, as quais são transformadas e eliminadas pelo leite (SALMON et al., 2009).

A participação relativa dessas Igs cai rapidamente com o transcorrer da lactação e a IgG predominante no início (76% do total) passa para cerca de 11% aos 21 dias de lactação. Por sua vez, a IgA emerge como a principal Ig aos 14 dias de lactação (BOURNE, 1976; KLOBASA et al., 1985). Em média, as concentrações de IgG, IgM e IgA no colostro são da ordem de 95,6; 9,1 e 21,2 mg/mL, respectivamente. Vinte e quatro horas após, estas concentrações caem para 14,2; 2,7 e 6,3, as quais atingem, aos sete dias de lactação, valores estáveis, em torno de 1,5, 1,8 e 4,8 respectivamente para IgG, IgM e IgA (KLOBASA et al., 1987a; KLOBASA et al., 1987b).

A diferença na composição de Igs é explicada pelas distintas funções do colostro e do leite. O colostro é fonte de anticorpos circulantes para o neonato, enquanto o leite provém proteção local de anticorpos para a mucosa intestinal (WAGSTROM et al., 2000). Esta drástica redução da concentração de anticorpos no colostro justifica a necessidade de viabilizar a maior ingestão possível pelos leitões logo nas primeiras horas após o parto. Além disso, a capacidade de absorção dos neonatos também é rapidamente diminuída e, em torno de 48 horas após o nascimento, a capacidade de absorção de Igs já é praticamente nula, devido à diminuição da permeabilidade intestinal iniciada pelo consumo de proteína e glicose (BROWN et al., 1961; GASKINS e KELLEY, 1995).

A absorção de Igs ocorre por endocitose e subsequente movimento transcelular das macromoléculas pelo epitélio intestinal. Todas as classes de anticorpos são transportadas através do epitélio dos vilos, enquanto que o epitélio das criptas absorve somente IgM e IgA (BUTLER et al., 1981). As Igs colostrais absorvidas entram primeiro no sistema linfático intestinal, e só então atingem a circulação. A IgA é resecretada na superfície das mucosas, principalmente para os tratos digestivo e respiratório, enquanto que a IgM e IgG farão parte dos anticorpos sanguíneos. Em torno de 24 horas após a ingestão do colostro, linfócitos de origem maternal estão presentes no fígado, pulmão, linfonodos, baço e trato gastrointestinal do neonato (BOURNE, 1976; WATSON, 1980).

3.3 Parvovírus suíno

3.3.1 Classificação e caracterização do vírus

As perdas reprodutivas são determinantes da redução da produtividade de criações comerciais de suínos, sendo a parvovirose suína uma das principais enfermidades responsável por estas perdas. A doença possui como agente etiológico o PPV, cujo isolamento e associação às falhas reprodutivas foram descritos primeiramente por Cartwright e Huck (1967). De acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV), a família *Parvoviridae* é composta por duas subfamílias (*Parvovirinae* e *Densovirinae*). A subfamília *Parvovirinae* é dividida em cinco gêneros, *Parvovirus*, *Erythrovirus*, *Dependovirus*, *Amdovirus*, *Bocavirus*, e recentemente outros dois gêneros foram propostos: *Hokovirus* e *Cnvirus* (HIJIKATA et al., 2001; FAUQUET e FARGETTE, 2005; LAU et al., 2008). Dentro do gênero *Parvovirus* estão: parvovírus de galinha (ChPV), vírus da panleucopenia felina (FPLV), parvovírus canino (CPV), vírus da enterite das martas (MEV), parvovírus dos mãos-peladas (RPV), vírus minuto dos camundongos (MMV) e parvovírus suíno (PPV) (HORWITZ, 1996; FAUQUET e FARGETTE, 2005; MORAES e COSTA, 2007). Até o presente momento, somente um sorotipo de PPV foi identificado, entretanto existem diferenças de patogenicidade entre isolados de campo (MARTINS SOARES et al., 2003; ZEEUW et al., 2007). Todavia, recentemente, outros vírus pertencentes a esta subfamília, capazes de infectar suínos, foram descritos, como o parvovírus suíno 2 (PPV2) (HIJIKATA et al., 2001), hokovírus suíno (PPV3 ou PHoV) (LAU et al., 2008; CHEUNG et al., 2010) e bocavírus-like (PPV4 ou PBoV1 e PBoV2) (BLOMSTRÖM et al., 2009; CHENG et al., 2010; CHEUNG et al., 2010), porém a correlação com alguma doença, patogenicidade, possível persistência e prevalência destes vírus permanecem incertos.

Os membros da família *Parvoviridae* são vírus pequenos, esféricos, com capsídeo icosaédrico e compostos por uma molécula de DNA linear de fita simples. Os parvovírus possuem somente quatro genes, distribuídos em duas regiões codificantes sobrepostas no genoma de 5 kilobases (Kb). O PPV possui 18 a 26 nm de diâmetro, é desprovido de envelope e as partículas virais possuem uma massa de 5,5 a 6,2 x 10⁶ daltons (RANZ et al., 1989; HORWITZ, 1996; MORAES e COSTA, 2007).

O genoma apresenta duas grandes fases abertas de leitura (*Open Reading Frames* - ORFs), sendo que a primeira (ORF1) compreende a metade esquerda (5') e codifica para proteínas não estruturais (*non structural* - NS), NS-1, NS-2 e NS-3. A NS-1 está associada à replicação do genoma viral e a NS-2 com a formação do capsídeo, controle da expressão gênica e também participa da replicação do genoma. A proteína NS-3 ainda não tem função conhecida, contudo, acredita-se que está igualmente relacionada à replicação viral. A segunda ORF (ORF2) está na

metade direita (3') do genoma e codifica para as três proteínas do capsídeo, (*viral protein* - VP), VP1, VP2 e VP3. As duas últimas possuem epítomos que induzem a formação de anticorpos neutralizantes e pequenas diferenças nestas proteínas podem determinar o tropismo por diferentes tecidos e hospedeiros. Além disto, possuem na superfície estruturas características, como protuberâncias, depressões e cilindros, que conferem funções biológicas, como reconhecimento e ligação a receptores celulares e características imunogênicas. (RANZ et al., 1989; HORWITZ, 1996; MORAES e COSTA, 2007).

Ao relacionar as propriedades físico-químicas do PPV, foi observado que este possui atividade hemoaglutinante sobre os eritrócitos e a densidade situa-se entre 1,39 e 1,42 g/cm³ em gradiente de cloreto de céσιο. O vírus é estável em pH entre 3 e 9, e a temperatura de 56°C por 60 minutos (HORWITZ, 1996). Por outro lado, desinfetantes à base de formalina, hipoclorito de sódio e agentes oxidantes são capazes de diminuir a infectividade ou inativar o vírus (BROWN, 1981).

Uma característica marcante do PPV é a dependência de células na fase S do ciclo celular para sua replicação. A infecção por este vírus afeta principalmente órgãos que apresentam células com altas taxas de multiplicação, como, as células embrionárias, células da medula óssea e células precursoras do epitélio intestinal (MENGELING, 1999). Em cultivos celulares *in vitro*, multiplica-se principalmente em células renais e testiculares de suínos, com indução de efeito citopático (EDWARDS e THORNTON, 1984; MIRANDA et al., 1992; ORAVEERAKUL et al., 1992). Por apresentar grande estabilidade no ambiente, podendo manter infectividade durante meses, o PPV é também um importante contaminante em laboratórios e em produtos de origem suína utilizados na saúde humana (SOUCIE et al., 2000). Todavia, em estudo realizado com trabalhadores em contato direto com suínos, com pessoas saudáveis e imunodeprimidas, o PPV não foi capaz de infectar humanos (WATTANAVIJARN et al., 1985; SOUCIE et al., 2000).

3.3.2 Epidemiologia e patogenia

A infecção pelo PPV está amplamente distribuída na população suína de todo o mundo, tanto doméstica quanto selvagem, sendo raras as granjas livres do vírus (MENGELING, 1972; RÓIC et al., 2005; RUIZ-FONS et al., 2006). No Brasil, estudos sorológicos utilizando HI em suínos provenientes de granjas comerciais indicam que o vírus já está estabelecido no País há pelo menos duas décadas, causando problemas reprodutivos (MARTINS et al., 1984; GOUVÊIA et al., 1984). Outros trabalhos relataram que a soroprevalência do PPV em granjas comerciais é superior a

80% (BERSANO et al., 1993; RODRIGUEZ et al., 2003), demonstrando que o vírus circula no plantel de suínos brasileiro. A introdução do vírus no rebanho pode ocorrer principalmente pela aquisição de reprodutores infectados. A transmissão pode ser através de contato oronasal com animais infectados ou a partir de suas secreções e excreções, tendo o sêmen, fetos e envoltórios fetais como importantes fontes de disseminação (GRADIL et al., 1990). Acredita-se que o manejo utilizado, especialmente em relação às condições de isolamento dos animais e o nível de higiene, possa ser o principal responsável pela maior ou menor disseminação viral dentro do plantel.

Após a penetração, o vírus replica-se em tecidos linfóides, medula óssea e criptas intestinais. A viremia ocorre 2-4 dias após a infecção e persiste por 2-3 dias. A infecção pode ser crônica, com replicação do vírus em células intestinais e excreção nas fezes por longos períodos, contribuindo para a contaminação ambiental (MENGELING, 1999). Em fêmeas, após a viremia, o vírus atravessa a placenta e infecta o concepto, contudo, ainda não está claro como o vírus consegue ultrapassar a barreira transplacentária (LAGER et al., 1992). Fisicamente, devido ao seu tamanho, o PPV não conseguiria ultrapassar esta barreira sem auxílio, embora, observou-se que fetos com menor desenvolvimento fazem com que suas placentas sofram um alargamento entre as junções celulares, permitindo maior passagem de nutrientes e moléculas. Especula-se que a passagem do vírus da mãe para o concepto poderia ser realizada também através de fluidos sanguíneos ou linfáticos, de células, como linfócitos e macrófagos, ou por replicação progressiva através dos tecidos que isolam o concepto (MENGELING et al., 2000; KRAKOWKA et al.; 2000). Embora a replicação viral em macrófagos nunca foi observada, monócitos periféricos e macrófagos são capazes de fagocitar o vírus, podendo permanecer com a partícula viral por longos períodos (KRAKOWKA et al.; 2000).

A ampla distribuição do agente também levanta a possibilidade de alguns suínos serem persistentemente infectados e excretarem o vírus periodicamente. Além disto, há a sugestão da ocorrência de animais portadores imunotolerantes, que nascem infectados, mas sem anticorpos. No entanto estes casos são raros e ainda não comprovados (JOHNSON e COLLINGS, 1971).

A resposta imune ao PPV é pouco conhecida em seus detalhes. Em infecções experimentais, foi observado que células mononucleares periféricas proliferam em contato com o PPV e atingem um platô de resposta após 90-120 dias. A ação das células T citotóxicas e demais linfócitos ainda não apresenta resposta significativa neste período (LADEKJAER-MIKKELSEN e NIELSEN, 2002). Após o primeiro contato com o agente, quando ocorrem re-infecções, o sistema de resposta imunoadquirido passa a ter importância. Entre as células efetivas e importantes para o

processamento do antígeno estão células B, macrófagos e, por fim, as células dendríticas que são descritas como as mais eficientes para capturar e processar partículas de PPV. As células T citotóxicas (CD8⁺) reconhecem estes antígenos processados e realizam parte do controle sobre a infecção viral através da liberação de toxinas, impedindo a disseminação de células infectadas (RUEDA et al., 2004).

Com relação à imunidade passiva, os leitões absorvem grande quantidade de anticorpos anti PPV através do colostro, cujos títulos decaem progressivamente. Em infecções pós-natais, anticorpos anti PPV são detectados a partir de sete dias após a infecção, atingindo níveis máximos em uma a duas semanas após, podendo persistir por meses ou até anos (JOHNSON et al., 1976; PAUL et al., 1982). Este período de duração de anticorpos não está bem determinado e não se sabe se eles são decorrentes da imunidade passiva, de infecção primária ou de sucessivas infecções.

O PPV é capaz de infectar todas as categorias da produção de suínos, contudo as fêmeas nulíparas, que não possuem imunidade para o vírus, são as que apresentam maior risco de infecção seguida de problemas reprodutivos. Em fêmeas pluríparas, com prévio contato ao agente, o efeito do vírus passa a ser reduzido ou nulo (TOO e LOVE, 1986; MENGELING, 1999). As fêmeas nulíparas podem estar protegidas pela presença de anticorpos maternos até três a sete meses de idade, conforme variação individual (JOHNSON et al., 1976; PAUL et al., 1982). Desta forma, enquanto algumas fêmeas estão desprotegidas pela ausência de anticorpos maternos, outras, que ainda apresentam anticorpos maternos, podem ficar desprotegidas pela neutralização do antígeno vacinal ocasionada pelos anticorpos maternos. Em qualquer uma destas situações, as fêmeas nulíparas estarão suscetíveis à infecção, devido à ausência de resposta humoral (ORAVAINEN et al., 2005).

Existe uma grande controvérsia quanto ao título de anticorpos para PPV considerado protetor. Acredita-se que apenas títulos maiores ou iguais a 80 protegem os animais da infecção (PAUL et al., 1980). Contudo, outros autores afirmam que títulos menores que 80 não protegem contra a infecção, mas podem proteger contra a infecção transplacentária e conseqüente transtorno reprodutivo em fêmeas vacinadas. Foi demonstrado em animais vacinados desafiados por via oral e nasal com PPV, que títulos a partir de 10 já fornecem proteção (MENGELING, 1979). Cabe salientar que a infecção natural produz títulos mais altos do que a vacinação. Johnson et al. (1976), através de infecção experimental, observaram que infecções com vírus de campo originam imunidade duradoura, com persistência de títulos altos (≥ 1024) de 15 meses até quatro anos.

As fêmeas não imunes são suscetíveis à infecção em qualquer fase da gestação e, como consequência desta infecção, a transmissão transplacentária pode acarretar em morte embrionária ou fetal, levando ao retorno do estro ou ao nascimento de leitões mumificados e/ou natimortos (MENGELING, 1999; ROEHE et al., 2007). Devido à lenta difusão viral pela placenta, muitas vezes, somente uma parte da leitegada pode ser afetada. Este evento leva à apresentação de fetos em diferentes estágios de desenvolvimento, ocasionando leitegadas irregulares, tanto em relação ao desenvolvimento fetal quanto ao número de leitões paridos (JOHNSON, 1971; MENGELING e CUTLIP, 1976; TOO e LOVE, 1986).

Caso a infecção ocorra até os 30 dias de gestação, pode haver morte parcial ou total dos embriões. Os embriões são reabsorvidos e observa-se retorno ao estro (regular ou irregular). Se sobreviverem mais de quatro embriões até o 12º dia de gestação, a mesma pode ser mantida, apesar do tamanho reduzido da leitegada (MENGELING, 1979). Após o 30º dia de gestação, há deposição de cálcio nos ossos fetais, impedindo a reabsorção. Ocorrendo infecção entre 30 e 70 dias de gestação, acontece a morte dos fetos, onde os tecidos moles são reabsorvidos, mas o tecido ósseo não, levando à mumificação e, possível prolongamento da gestação (MENGELING et al., 1975; LENGHAUS et al., 1978). Após os 65-70 dias de gestação, os fetos geralmente tornam-se imunocompetentes, sendo capazes de responder à infecção. Neste caso, o vírus é eliminado e anticorpos específicos podem ser detectados no soro (MENGELING, 1999; ROEHE et al., 2007). Outra possibilidade para a baixa infectividade do PPV em fetos no último terço da gestação seria uma menor atividade de mitose, resultando em maiores dificuldades para a replicação do vírus (MENGELING et al., 2000).

O PPV também está relacionado com outros vírus imunossupressores emergentes na suinocultura mundial, como o PCV2 e a síndrome reprodutiva e respiratória suína (PRRS) (KRAKOWKA et al., 2000; LYOO, et al., 2001; ELLIS et al., 2004). Em infecções concomitantes com PCV2, o PPV pode atuar de forma sinérgica, aumentando a severidade das lesões (KENNEDY et al., 2000; ELLIS et al., 2004; FERNANDES et al., 2006). A emergência do PCV2, associado às propriedades do PPV, pode ter interferido na apresentação da infecção por PPV, tornando a parvovirose suína a mais importante virose causadora de problemas reprodutivos em fêmeas suínas no Brasil (FERNANDES et al., 2006).

3.3.3 Manifestações clínicas e lesões

As manifestações clínicas observadas são dependentes da fase gestacional e categoria de infecção. Na maioria das vezes o único indício da infecção são alterações reprodutivas, como morte embrionária seguido de reabsorção, fetos mumificados e neonatos fracos, observados principalmente em nulíparas. Essas manifestações podem ser acompanhadas de retorno ao estro, nascimento de um número reduzido de leitões, fêmeas vazias ao parto e atraso na data de parição. Devido à difusão lenta da infecção, é comum a presença de fetos em diferentes estágios de desenvolvimento, podendo ocorrer fetos mumificados, natimortos e normais na mesma leitegada (MENGELING et al., 1975; LENGHAUS et al., 1978; MENGELING, 1979).

A ocorrência de abortamento causada pelo PPV é controversa. Apesar do vírus já ter sido detectado em fetos abortados, a associação direta do PPV, bem como o mecanismo da morte dos conceptos não foram determinados (MENGELING, 1999; WOLF et al., 2008). Contudo, Zhang et al. (2010), confirmaram o envolvimento do PPV em surto de abortamento em javalis confinados, por sorologia, isolamento, microscopia eletrônica, e PCR, entretanto sem identificar os mecanismos que levam ao abortamento. Em seguida, reinocularam o vírus em suínos, levando novamente ao abortamento em fêmeas; entretanto, se o vírus interfere na regulação hormonal da fêmea, no conceito ou em ambos, ainda permanece obscuro.

Já a infecção em machos é assintomática e não afeta a qualidade do sêmen nem a libido (THACKER et al., 1987). As infecções pós-natais usualmente passam despercebidas, podendo ocasionalmente induzir febre e leucopenia (CUTLIP e MENGELING, 1975). Além destas manifestações, dermatite (KRESSE et al., 1985) e enterite (DEA et al., 1985; DUHAMEL et al., 1991) também têm sido associadas ao PPV. A única evidência de replicação viral foi encontrada nas células epiteliais das criptas intestinais, através da microscopia eletrônica. Porém, o vírus não apresentou afinidade por anticorpos específicos para PPV, sendo sugerido que este parvovírus poderia ter características antigênicas distintas (DEA et al., 1985; DUHAMEL et al., 1991). É importante ressaltar que a maioria destes achados são eventos isolados, podendo ser apenas achados acidentais.

Nenhuma lesão macroscópica é observada na fêmea. Entretanto, microscopicamente, pode-se observar infiltrado inflamatório mononuclear no endométrio e presença de linfócitos no sistema nervoso central, medula e coróide ocular. Nos fetos, as lesões são características de mumificação, variando com o estágio evolutivo. Congestão, edema, hemorragia e necrose podem ser observados, associados com infiltrado inflamatório mononuclear perivascular, hipertrofia endotelial e, eventualmente, inclusões intranucleares (MENGELING, 1999).

3.3.4 Diagnóstico

A parvovirose deve ser sempre lembrada quando forem observados os sinais clínicos citados anteriormente, com principal ênfase à mumificação fetal afetando principalmente nulíparas. A confirmação clínica deve ser realizada através de exames laboratoriais.

O diagnóstico de PPV pode ser realizado através de histopatologia, hibridização *in situ*, imunofluorescência e reação em cadeia da polimerase (PCR) (WALDVOGEL et al., 1995). Entretanto, como os tecidos de escolha (pulmão e rim dos fetos) geralmente encontram-se autolisados, torna-se importante a utilização de técnicas sorológicas, como inibição da hemaglutinação (HI) e *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) (MENGELING, 1999).

Como o PPV é capaz de aglutinar eritrócitos, o uso de HI é eficiente na detecção de anticorpos contra o vírus. Além disto, é o teste sorológico mais utilizado, devido a sua fácil aplicação e baixo custo (MENGELING, 1999). Entretanto, quando utilizado como ferramenta para avaliação do perfil sorológico do plantel, torna-se uma prova laboriosa. Além disto, não existe padronização dos parâmetros relacionados à temperatura de incubação, espécie e idade do doador de hemácias e tratamento prévio da amostra, o que interfere na repetibilidade dos resultados (JOO et al., 1976). Desta forma, o diagnóstico sorológico da parvovirose suína com o emprego do ELISA vem sendo utilizado em vários países, pois, além de dispensar o tratamento prévio das amostras pode ser padronizado e automatizado (MADSEN et al., 1997; DAMM et al., 2002; QING et al., 2006). Contudo, esta técnica ainda não é aplicada na rotina diagnóstica no Brasil, fato que, se utilizada, poderia facilitar o diagnóstico da doença e permitir o estabelecimento com maior agilidade do perfil sorológico das granjas brasileiras.

Além disto, a partir do uso da vacina em quase todas as granjas, a interpretação do título de anticorpos passou a ser uma prática difícil. Estudos que realizaram a verificação sorológica de PPV em plantéis passaram a relatar a presença de imunidade na maioria dos animais (como esperado após a vacinação), entretanto, também a presença de títulos altos e muitas vezes heterogêneos passou a ser observada (ORAVAINEN et al., 2005; 2006). De uma forma geral, a distinção entre títulos vacinais e oriundos de desafios de campo poderia ser realizada através do nível de anticorpos, por que a estimulação humoral realizada pelas vacinas geralmente não excede títulos de 512 (ORAVAINEN et al., 2006). Entretanto, a impossibilidade de diferenciar anticorpos adquiridos

passivamente de uma resposta ativa, juntamente com a falta de estandardização de métodos sorológicos, dificulta este tipo de análise.

Outros métodos sorológicos também foram descritos, como a micro-aglutinação em tubo (JOO et al., 1975), imunodifusão em gel de ágar (TOO et al., 1983), imunofluorescência (RIVERA et al., 1986) e a aglutinação rápida em placa (LU et al., 2006). Entretanto nenhuma destas técnicas conseguiu comprovar a praticidade ou confiança a exemplo do HI e ELISA para o PPV.

O isolamento viral pode ser utilizado para o diagnóstico devido ao efeito citopático, como inclusões intranucleares, núcleo picnótico, irregularidade no contorno, granulações, vacúolos citoplasmáticos, diminuição na velocidade de replicação e consequente morte celular (CARTWRIGHT e HUCK, 1967; MENGELING, 1972; 1999). O PPV apresenta boa afinidade por células de testículo e rim de leitões ou embriões. Como o cultivo celular primário apresenta maior risco de contaminação e proporciona um pequeno número de replicações celulares, as linhagens celulares, como a ESK, PK15, SK6, ST, STE e SPEV, vem sendo utilizadas com boa sensibilidade para a replicação viral. Entretanto, mesmo em células de linhagem, a técnica não é muito eficaz, pois a infecciosidade do vírus é diminuída ou inativada em tecidos fetais, principalmente mumificados, devido ao avançado estado de autólise. Além disto, o PPV pode necessitar de sucessivas passagens até causar efeito citopático (MIRANDA et al., 1992; ORAVEERAKUL et al., 1992; MENGELING, 1999).

O avanço nas pesquisas em biologia molecular possibilitou o desenvolvimento de métodos baseados na detecção de sequências virais específicas. O primeiro método desenvolvido com esta tecnologia foi à hibridização de ácidos nucléicos (ORAVEERAKUL et al., 1990). Esta técnica possui boa sensibilidade e especificidade, mas, possivelmente, a necessidade do preparo de sondas específicas foi determinante para a baixa difusão deste método. Por sua vez, a PCR conseguiu associar sensibilidade, especificidade e praticidade. Duas técnicas de PCR para PPV estão descritas, uma americana e outra brasileira. Interessantemente, as duas técnicas apresentam alvos genômicos bem distintos, a americana é projetada para amplificar a região correspondente às proteínas VP (MOLITOR et al., 1991), enquanto a brasileira é projetada para a região NS (SOARES et al., 1999). Da mesma forma, a técnica também tem sido estabelecida para detecção do vírus em tecidos de fetos abortados e natimortos (PESCADOR et al., 2007), em amostras de soro nas diferentes categorias animais (GAVA et al., 2008; STRECK et al., 2011a) e em líquido folicular (POGRANICHNIY et al., 2008).

Atualmente, a PCR em tempo real tem sido descrita como uma forma eficiente de diagnóstico para PPV. Além de associar a sensibilidade e especificidade da PCR convencional, possui como vantagens a capacidade de quantificação e leitura automatizada. Várias técnicas, com diferentes segmentos alvos e diversos tipos de amostras estão descritos. O uso de *syber green*, com região alvo VP2 em órgãos de fetos foi descrita por Wilhelm et al. (2006) e para NS1 em órgãos de feto e fêmeas por Miao et al. (2009). Já TaqMan para VP2 em órgãos de feto abortado por Chen et al. (2009) e para região NS1 por Song et al. (2010).

Somando-se a isto, é imprescindível realizar o diagnóstico diferencial de outras doenças que causam problemas reprodutivos, como leptospirose, doença de Aujeszky, brucelose, toxoplasmose, peste suína clássica e síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos (PRRS), além de verificar a possível associação do PPV com PCV2 e outros vírus emergentes.

3.3.5 Controle

Uma vez que não existe qualquer referência específica quanto ao tratamento da infecção pelo PPV, as ações devem concentrar-se em medidas preventivas. Devem ser adotadas medidas de manejo gerais, a fim de promover um bom estado sanitário do rebanho (ROEHE et al., 2007). Todas as ações tomadas vão ao encontro de estabelecer uma imunidade sólida no rebanho, com principal foco às nulíparas, podendo ser utilizada a vacinação ou indução “controlada” por “feedback”.

Na infecção “controlada”, as leitoas podem entrar em contato direto ou ser colocadas em instalações ocupadas com fêmeas mais velhas, ou ainda pode-se ofertar fezes, restos de placenta ou fetos mumificados antes da cobertura. Este processo deve ser feito com cuidado, pois é de alto risco sanitário, podendo disseminar outras infecções no rebanho (MENGELING, 1972; ROEHE et al., 2007).

Como a infecção é endêmica, o controle mais indicado é a vacinação. As primeiras vacinas desenvolvidas, ainda durante a década de 70, foram realizadas com o vírus inativado (SUZIKI e FUJISAKI, 1976; JOO e JOHNSON 1977; MENGELING et al., 1979). Nos anos posteriores, a cepa NADL-2 passou a ser amplamente utilizada para a elaboração da vacina inativada, embora atualmente o tipo de cepa utilizada pela empresas farmacêuticas é considerado um segredo comercial e há poucas informações publicadas (BROWN et al., 1987; PYE et al., 1990; ZEEUW et al., 2007). Ainda assim, as mudanças ocorridas na tecnologia para obtenção do antígeno, adjuvantes

e conservantes nas vacinas inativadas possivelmente sejam as principais modificações realizadas (WRATHALL et al., 1984; MOLITOR et al., 1985; ROIC et al., 2006).

Outras apresentações de vacinas tem sido desenvolvidas, como partículas recombinantes expressas em sistema baculovírus (MARANGA et al., 2002; ANTONIS et al., 2006), recombinante expressando a proteína VP2, produzida em *Lactobacillus casei* (YIGANG e YIJING, 2008) e uma vacina híbrida (PPV e PCV2) (PAN et al., 2008). Apesar da tecnologia empregada nestes estudos, a vacina inativada continua a ser largamente utilizada devido a sua maior margem de segurança. No Brasil, só existem comercialmente vacinas inativadas, podendo ser monovalente ou combinada com antígenos.

Tradicionalmente, a adoção de um bom programa de vacinação é considerada uma forma eficaz de controle da parvovirose suína. Recomenda-se a vacinação das nulíparas pelo menos 30 dias antes da cobertura, em média aos 170-180 dias de idade, seguida de uma segunda dose 15 dias após. Após, as fêmeas devem ser revacinadas em torno de 10 a 15 dias após o parto. Os machos devem ser vacinados com a primeira dose cinco a seis semanas antes de entrar para a reprodução, com aplicação da segunda dose 15 a 20 dias depois e revacinação a cada seis meses (MENGELING, 1999; ROEHE et al., 2007).

Entretanto, em estudo verificando a atividade de neutralização gerada por cepas vacinais, foi observado que as cepas vacinais não conseguiram obter completa capacidade neutralizante frente a novas cepas circulantes na Europa (ZEEUW et al., 2007). As cepas vacinais do referido estudo são utilizadas há mais de 30 anos, podendo não possuir mais completa atividade protetora contra as novas variantes antigênicas. Idealmente, deveria ser avaliado o perfil sorológico do rebanho, com o objetivo de identificar se as nulíparas estão sendo imunizadas no período correto, e também se existe necessidade de revacinação das fêmeas mais velhas, evitando gastos desnecessários.

4. ARTIGOS

4.1 Artigo 1- “Atualização sobre a parvovirose na suinocultura”

Cópia original do artigo publicado no Periódico Acta Scientiae Veterinariae

ISSN 1679-9216



Atualização sobre a parvovirose na suinocultura

Update on porcine parvovirus at swine production

Danielle Gava^{1,2}, André Felipe Streck², Carine Kunzler Souza², Karla Rathje Gonçalves²,
Cláudio Wageck Canal², Fernando Pandolfo Bortolozzo¹ & Ivo Wentz¹

INTRODUÇÃO

Atualmente, as principais doenças que afetam os rebanhos suínos são multifatoriais e virais, acarretando principalmente em redução no desempenho e aumento dos custos de produção [52,73]. Neste cenário, o surgimento e dispersão de novos patógenos causadores de falhas reprodutivas fizeram, possivelmente, com que o parvovírus suíno (PVS) ressurgisse como um importante agente infeccioso causador de perdas embrionárias e fetais na suinocultura.

O PVS é um vírus que causa problemas reprodutivos em fêmeas suínas, com grande impacto, principalmente em nulíparas. Apesar de, usualmente, a infecção ser subclínica em suínos adultos, sua importância deve-se à capacidade de infecção transplacentária, levando à morte dos embriões e fetos [25,43,73]. A fim de que se possam adotar medidas de prevenção e diminuição do impacto da enfermidade no plantel, as metodologias de diagnóstico são de grande importância, sendo a determinação do perfil sorológico do rebanho essencial. E é justamente neste item, diagnóstico associado com epidemiologia, que tem surgido os mais recentes trabalhos, sendo a grande maioria relacionada à biologia molecular.

Por outro lado, é comprovado que existem variações entre os genomas de amostras de campo de PVS, inclusive em regiões importantes para o caráter antigênico da amostra [78,93]. Contudo, até o presente momento, nunca foi realizado um estudo mais amplo e comparativo entre amostras de campo e amostras vacinais para compreender se estas variações gênicas estão comprometendo a eficácia das vacinas utilizadas no Brasil. Assim, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão sobre o PVS, enfocando estudos recentes e pesquisas desenvolvidas no Brasil sobre o vírus.

PARVOVÍRUS SUÍNO

Classificação e caracterização do vírus

O PVS foi descrito pela primeira vez em 1967 [8], sendo posteriormente isolado em conceptos suínos em diversos países [9,25,44,54]. Até a presente data, o PVS segue sendo relatado em diversos países e correlacionado com problemas reprodutivos [5,17,56,59,70].

A família *Parvoviridae* é composta por duas subfamílias (*Parvovirinae* e *Densovirinae*). A subfamília *Parvovirinae* é composta por cinco gêneros: *Parvovirus*, *Erythrovirus*, *Dependovirus*, *Amdovirus* e *Bocavirus*. O gênero *Parvovirus* possui as espécies parvovírus de camundongos 1, parvovírus de galinha, parvovírus H-1, parvovírus HB, parvovírus Kilham de ratos, parvovírus Lapine, parvovírus RT, parvovírus suíno, vírus Lull, vírus da panleucopenia felina, vírus minuto dos camundongos e vírus tumoral X [24, 53]. Em suínos, apenas um gênero de parvovírus é conhecido, entretanto, técnicas moleculares possibilitaram a identificação de novos parvovírus. Há alguns anos, durante uma tentativa de identificar um vírus da hepatite E, foi identificado, acidentalmente, um novo parvovírus em

¹Setor de Suínos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS/Brasil. ²Laboratório de Virologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS/Brasil. CORRESPONDÊNCIA: D. Gava [daniellegava@gmail.com].

soros de suínos, denominado *Porcine parvovirus 2* (PPV2) [21]. Recentemente, em 2007, outro parvovírus foi identificado em soro de suínos, sendo por sua vez nominado *Porcine hokovirus* [33]. Estes dois novos parvovírus apresentam genomas filogeneticamente distantes do parvovírus suíno previamente descrito, por isto foram considerados como representantes de outro gênero dentro da família *Parvoviridae*. Até o momento, a identificação e caracterização destes vírus foram realizadas exclusivamente através de seu DNA. Novos estudos envolvendo propriedades bioquímicas, sorológicas, infecciosas e patogênicas ainda necessitam serem realizados para compreendermos a natureza destes vírus.

Os membros da família *Parvoviridae* são vírus pequenos, esféricos, com capsídeo icosaédrico e compostos por uma molécula de DNA linear de fita simples. Os parvovírus possuem somente quatro genes, distribuídos em duas regiões codificantes sobrepostas no genoma de 5 kilobases (Kb). O PVS possui 18 a 26 nm de diâmetro, é desprovido de envelope e as partículas virais possuem uma massa de 5,5 a 6,2 x 10⁶ daltons [52].

Seu genoma apresenta duas grandes fases abertas de leitura (*Open Reading Frames* - ORFs), sendo que a primeira compreende a metade esquerda (5') e codifica para proteínas não estruturais (*non structural* - NS), NS-1, NS-2 e NS-3. A NS-1 está associada à replicação do genoma viral e a NS-2 com a formação do capsídeo, controle da expressão gênica e também participa da replicação do genoma. A proteína NS-3 ainda não tem função conhecida, contudo, acredita-se que está igualmente relacionada à replicação viral. A segunda ORF está na metade direita (3') do genoma e codifica para as três proteínas do capsídeo, (*viral protein* - VP), VP1, VP2 e VP3. As duas últimas possuem epítomos que induzem a formação de anticorpos neutralizantes e pequenas diferenças nestas proteínas podem determinar o tropismo por diferentes tecidos e hospedeiros. Além disto, possuem na superfície estruturas características, como protuberâncias, depressões e cilindros circundados por depressões, que conferem funções biológicas, como reconhecimento e ligação a receptores celulares e características imunogênicas [52]. Possivelmente, o genoma do PVS ainda apresenta mais funções e proteínas a serem descobertas.

Até o presente momento, somente um sorotipo de PVS foi identificado, entretanto existem diferenças de patogenicidade entre isolados de campo [52]. Foram realizados dois estudos avaliando a variabilidade genética de amostras circulantes de PVS. O primeiro foi realizado com amostras brasileiras, dos estados de Goiás, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e São Paulo, e foi evidenciado que as amostras se dividem em dois grupos filogenéticos distintos, e ainda com subdivisões internas [78]. O segundo foi realizado com amostras isoladas na Alemanha e, igualmente, foi identificada a presença de dois grupos filogenéticos distintos. Conforme os autores, o estudo demonstrou que o PVS é geneticamente mais variável do que previamente se pressupunha [93]. A significância epidemiológica destas mutações e substituições no PVS foi melhor compreendida em um estudo que seqüenciou e analisou as diferenças entre a cepa patogênica Kresse e a pouco patogênica NADL-2 [3]. Neste trabalho, foi observado que as regiões não codificantes do genoma de ambas as cepas eram praticamente idênticas. A região de proteínas NS apresentou apenas algumas variações, embora todas silenciosas. Por sua vez, a região das proteínas VP apresentou maiores variações (oito), sendo seis modificações que alteravam o aminoácido (A-92!R, I-215 (378)!T, D-378 (528)!G, H-383 (533)!Q, S-436 (586)!P e R-565 (627)!K). Nos estudos acima referidos, a observação destes aminoácidos e a predição de sua importância para a patogenia do vírus haviam sido realizadas *in silico*.

Recentemente, foi realizado um estudo inoculando cepas de PVS enquadradas em distintos grupos filogenéticos em fêmeas gestantes. Foi observado que amostras do grupo composto por novas cepas da Alemanha apresentaram maior virulência, com uma maior patogenia e disseminação entre os fetos [92]. O autor ainda realizou um estudo com neutralização cruzada e observou que as substituições dos aminoácidos de superfície (descritos acima) diminuíram significativamente a afinidade dos anticorpos. Apesar de poucos estudos *in vivo* realizados até o momento, é muito provável que os aminoácidos de superfície desempenhem papel fundamental na virulência do PVS e na sua adaptação ao hospedeiro.

Ao relacionar as propriedades físico-químicas do PVS, foi observado que este possui atividade hemoaglutinante sobre os eritrócitos e a densidade situa-se entre 1,39 e 1,42 g/cm³ em gradiente de cloreto de céso. O vírus é estável em pH entre 3 e 9, e a temperatura de 56°C por 60 minutos [22]. Por outro lado, desinfetantes à base de formalina, hipoclorito de sódio e agentes oxidantes são capazes de diminuir a infectividade ou inativar o vírus [6].

Uma característica marcante do PVS é a dependência de células na fase S do ciclo celular para sua replicação. A infecção por este vírus afeta principalmente órgãos que apresentam células com altas taxas de multiplicação, como, as células embrionárias, células da medula óssea e células precursoras do epitélio intestinal [43]. Em cultivos celulares *in vitro*, multiplica-se principalmente em células renais e testiculares de suínos, com indução

de efeito citopático [13,49,61]. Por apresentar grande estabilidade no ambiente, podendo manter infectividade durante meses, o PVS é também um importante contaminante em laboratórios e em produtos de origem suína utilizados na saúde humana [80].

Epidemiologia e patogenia

A infecção pelo PVS está amplamente distribuída na população suína mundial, tanto doméstica quanto selvagem, sendo raras as granjas livres do vírus [15,75,77]. No Brasil, estudos sorológicos utilizando a prova de inibição da hemaglutinação (HI) em suínos provenientes de granjas comerciais indicaram que o vírus já está estabelecido no País há pelo menos duas décadas, causando problemas reprodutivos [19,40]. Outros trabalhos relataram que a soroprevalência do PVS em granjas comerciais é superior a 80% [4,72], demonstrando que o vírus circula no plantel de suínos brasileiro.

A introdução do vírus no rebanho pode ocorrer principalmente pela aquisição de reprodutores infectados. A transmissão pode ser através de contato oronasal com animais infectados ou a partir de suas secreções e excreções, tendo o sêmen, fetos e envoltórios fetais como importantes fontes de disseminação [20]. Em trabalhos com inoculação experimental do PVS em machos reprodutores, foi possível o isolamento viral a partir do testículo e de linfonodos escrotais, comprovando a susceptibilidade e conseqüente transmissão do vírus pelo sêmen [37]. Ressalta-se que ainda faltam estudos que utilizem técnicas mais sensíveis para quantificar a incidência de PVS em machos e estabelecer sua importância.

Após a penetração, o vírus replica-se em tecidos linfóides, medula óssea e criptas intestinais. A viremia ocorre 2-4 dias após a infecção e persiste por 2-3 dias. A infecção pode ser crônica, com replicação do vírus em células intestinais e excreção nas fezes por longos períodos, contribuindo para a contaminação ambiental [43].

A ampla distribuição do PVS também levanta a possibilidade de alguns suínos serem persistentemente infectados e excretarem o vírus periodicamente. Além disto, há a sugestão da ocorrência de animais portadores imunotolerantes, que nascem infectados, mas sem anticorpos. No entanto estes casos são raros e ainda não comprovados [25]. Acredita-se que o manejo utilizado, especialmente as condições de isolamento dos animais e o nível de higiene, possa ser o principal responsável pela maior ou menor disseminação viral no plantel.

A resposta imune ao PVS é pouco conhecida em seus detalhes. Em infecções experimentais, foi observado que células mononucleares periféricas proliferam em contato com o PVS e atingem um platô de resposta após 90-120 dias. A ação das células T citotóxicas e demais linfócitos ainda não apresenta resposta significativa neste período [32]. Após o primeiro contato com o agente, quando ocorrem re-infecções, o sistema de resposta imunoadoquirido passa a ter importância [32]. Este sistema de resposta é estimulado por fragmentos antigênicos que se ligam a receptores específicos nos linfócitos T. Para que ocorra esta ligação, a célula infectada deve processar o antígeno e apresentá-lo através de MHC de classe I [55]. Entre as células efetivas e importantes para o processamento do antígeno estão células B, macrófagos e, por fim, as células dendríticas que são descritas como as mais eficientes para capturar e processar partículas de PVS [76]. As células T citotóxicas (CD8⁺) reconhecem estes antígenos processados e realizam parte do controle sobre a infecção viral através da liberação de toxinas [76], impedindo a disseminação de células infectadas. Ressalta-se que a imunologia celular é uma área que ganhou importância nos últimos anos com o desenvolvimento de técnicas mais sensíveis e, provavelmente, poderá evoluir na compreensão da relação entre a parvovirose suína e o sistema imune do hospedeiro.

Com relação à imunidade passiva, os leitões absorvem grande quantidade de anticorpos anti PVS através do colostro, cujos títulos decaem progressivamente. Em infecções pós-natais, anticorpos anti PVS são detectados a partir de sete dias após a infecção, atingindo níveis máximos em uma a duas semanas após, podendo persistir por meses ou até anos [26,64]. Este período de duração de anticorpos não está bem determinado e não se sabe se eles são decorrentes da imunidade passiva, de infecção primária ou de sucessivas infecções. Estudos envolvendo o perfil sorológico de suínos, do nascimento até a idade reprodutiva, bem como correlação com anticorpos da mãe (colostro e sangue) estão sendo desenvolvidos [D. Gava, resultados não publicados].

Existe uma grande controvérsia quanto ao título de anticorpos anti PVS considerado protetor. Acredita-se que apenas títulos maiores ou iguais a 80 ou 160 protegem os animais da infecção [65]. Contudo, outros autores afirmam que títulos menores que 80 não protegem contra a infecção, mas podem proteger contra a infecção transplacentária e conseqüente transtorno reprodutivo em fêmeas vacinadas. Foi demonstrado que em animais vacinados desafiados por via oral e nasal com PVS, títulos a partir de 10 já fornecem proteção [46]. Cabe salientar

que a infecção natural produz títulos mais altos do que a vacinação.

O PVS é capaz de infectar todas as categorias da produção de suínos, contudo as fêmeas nulíparas, que não possuem imunidade para o vírus, são as que apresentam maior risco de infecção seguida de problemas reprodutivos. Em fêmeas pluríparas, com prévio contato ao agente, o efeito do vírus passa a ser reduzido ou nulo [43,83]. Em um estudo realizado em 323 amostras de soro de leitões saudáveis e refugos, foi evidenciado através da reação em cadeia da polimerase (nested-PCR) a prevalência de 15,7% e 18,2% de animais positivos respectivamente, não sendo encontrada diferença entre os grupos [A.F. Streck, resultados não publicados]. No mesmo estudo, 129 amostras de soro de fêmeas de diferentes ordens de parto (OP) também foram avaliadas por nested-PCR e HI. Neste, em 17,8% das amostras foi detectado o DNA viral, sendo que a OP1 teve maior número de fêmeas positivas que a OP2. O número de fêmeas positivas aumentou da OP2 até OP4, e então tornou a diminuir. O teste de HI mostrou 84,7% de fêmeas positivas, 7,3% suspeitas e 8,1% negativas. De uma forma geral, este estudo determinou que o vírus circula nos rebanhos brasileiros entre 15 e 18% nas diferentes categorias animais [A.F. Streck, resultados não publicados].

As fêmeas nulíparas podem estar protegidas pela presença de anticorpos maternos até três a sete meses de idade, conforme variação individual [26,64]. Desta forma, enquanto algumas fêmeas estão desprotegidas pela ausência de anticorpos maternos, outras, que ainda apresentam anticorpos maternos, podem ficar desprotegidas pela neutralização do antígeno vacinal ocasionada pelos anticorpos maternos. Em qualquer uma destas situações, as fêmeas nulíparas estarão suscetíveis à infecção, devido à ausência de resposta humoral [59]. Outros estudos estão sendo realizados com o objetivo de identificar o real perfil sorológico de nulíparas antes da primeira vacinação, e também de estabelecer a soroconversão pós vacinação nesta categoria [D. Gava, resultados não publicados].

As fêmeas não imunes são suscetíveis à infecção em qualquer fase da gestação e, como consequência desta infecção, a transmissão transplacentária pode acarretar em morte embrionária ou fetal, levando ao retorno do estro ou ao nascimento de leitões mumificados e/ou natimortos [43,73]. Devido à lenta difusão viral pela placenta, muitas vezes, somente uma parte da leitegada pode ser afetada. Este evento leva à apresentação de fetos em diferentes estágios de desenvolvimento, ocasionando leitegadas irregulares, tanto em relação ao desenvolvimento fetal quanto ao número de leitões paridos [25,42,83].

Caso a infecção ocorra até os 30 dias de gestação, pode ocorrer morte parcial ou total dos embriões. Os embriões são reabsorvidos e ocorre retorno ao estro (regular ou irregular). Se sobreviverem mais de quatro embriões até o 12º dia de gestação, a mesma pode ser mantida, apesar do tamanho reduzido da leitegada [45]. Após o 30º dia de gestação, ocorre deposição de cálcio nos ossos fetais, impedindo a reabsorção. Ocorrendo infecção entre 30 e 70 dias de gestação, ocorre a morte dos fetos, onde os tecidos moles são reabsorvidos, mas o tecido ósseo não, levando à mumificação e, no caso de morte de todos os fetos, possível prolongamento da gestação [34,47]. Após os 65-70 dias de gestação, os fetos geralmente tornam-se imunocompetentes, sendo capazes de responder à infecção. Neste caso, o vírus é eliminado e anticorpos específicos podem ser detectados no soro [43,73]. Outra possibilidade para a baixa infectividade do PVS em fetos no último terço da gestação seria uma menor atividade de mitose, resultando em maiores dificuldades para a replicação do vírus [48].

Ainda não está claro como o vírus consegue ultrapassar a barreira transplacentária [87]. As células que formam as camadas placentárias estão intimamente ligadas por junções que não permitem a passagem de pequenas moléculas, como por exemplo, os anticorpos [87]. Acredita-se que a passagem do vírus da mãe para o feto poderia ser realizada através de fluídos sanguíneos ou linfáticos, células, como linfócitos e macrófagos, ou por replicação progressiva através dos tecidos que isolam o feto [48]. Fisicamente, devido ao seu tamanho, o PVS não conseguiria ultrapassar esta barreira sem auxílio, embora, recentemente, observou-se que fetos com menor desenvolvimento fazem com que suas placentas sofram um alargamento entre as junções celulares, permitindo maior passagem de nutrientes e moléculas [85]. Foi observado que linfócitos fetais podem estar presentes na circulação da mãe. Possivelmente, a passagem das células do sistema imune seja utilizada pelo vírus para atingir o feto. Embora a replicação viral em macrófagos nunca foi observada, trabalhos relatam que monócitos periféricos e macrófagos fagocitam o vírus, podendo permanecer com a partícula viral por longos períodos [66].

Examinando a distribuição do PVS em diferentes tecidos fetais, o vírus foi encontrado no intestino, coração, fígado, pulmão, rim, baço, timo, gônadas e cérebro [62,87]. Foi observado que as cepas de PVS mais virulentas apresentam maior concentração e distribuição mais ampla entre os tecidos, porém sem maiores predileções definidas por determinados tecidos [87]. Por outro lado, em trabalho recente realizado no Brasil, foi observada, através de

PCR, uma maior incidência de PVS no pulmão e coração de fetos mumificados [89]. Acredita-se que a morte do embrião ou feto ocorre devido à replicação viral nos tecidos do concepto [48], embora maiores detalhes sobre a patogenia viral ainda não foram esclarecidos.

O PVS também está relacionado com outros vírus imunodepressores emergentes na suinocultura mundial, como o PCV2 e a síndrome reprodutiva e respiratória suína (PRRS) [14,38]. Em infecções concomitantes com PCV2, o PVS pode atuar de forma sinérgica, aumentando a severidade das lesões [14,30]. A emergência do PCV2, associado às propriedades do PVS, pode ter interferido na apresentação da infecção por PVS, tornando a parvovirose suína a mais importante virose causadora de problemas reprodutivos em fêmeas suínas no Brasil [16].

Manifestações clínicas e lesões

As manifestações clínicas observadas são dependentes da fase gestacional e categoria de infecção. Na maioria das vezes o único indício da infecção são alterações reprodutivas, como morte embrionária seguido de reabsorção, abortamentos (questionável), fetos mumificados e neonatos fracos, observados principalmente em nulíparas. Essas manifestações podem ser acompanhadas de retorno ao estro, nascimento de um número reduzido de leitões, fêmeas vazias ao parto e atraso na data de parição. Devido à difusão lenta da infecção, é comum a presença de fetos em diferentes estágios de desenvolvimento, podendo ocorrer fetos mumificados, natimortos e normais na mesma leitegada [34,45,47].

A infecção em machos é assintomática e não afeta a qualidade do sêmen nem a libido [82]. As infecções pós-natais usualmente passam despercebidas, podendo ocasionalmente induzir febre e leucopenia [10]. Além destas manifestações, dermatite [31] e enterite [11,12] também têm sido associadas ao PVS. A única evidência de replicação viral foi encontrada nas células epiteliais das criptas intestinais, através da microscopia eletrônica. Neste trabalho, o vírus não apresentou afinidade por anticorpos específicos para PVS, sendo sugerido que este parvovírus poderia ter características antigênicas distintas [12]. É importante ressaltar que a maioria destes achados são eventos isolados, podendo ser apenas achados acidentais.

Nenhuma lesão macroscópica é observada na fêmea. Entretanto, microscopicamente, pode-se observar infiltrado inflamatório mononuclear no endométrio e presença de linfócitos no sistema nervoso central, medula e coróide ocular. Nos fetos, as lesões são características de mumificação, variando com o estágio evolutivo. Congestão, edema, hemorragia e necrose podem ser observados, associados com infiltrado inflamatório mononuclear perivascular, hipertrofia endotelial e, eventualmente, inclusões intranucleares [44].

Diagnóstico

A parvovirose deve ser sempre lembrada quando forem observados os sinais clínicos citados anteriormente, com principal ênfase à mumificação fetal afetando principalmente nulíparas. A confirmação clínica deve ser realizada através de exames laboratoriais.

O diagnóstico de PVS pode ser realizado através de histopatologia, hibridização *in situ*, imunofluorescência e PCR [86]. Entretanto, como os tecidos de escolha (pulmão e rim dos fetos) geralmente encontram-se autolisados, torna-se importante a utilização de técnicas sorológicas, como HI e *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) [43].

Como o PVS é capaz de aglutinar eritrócitos, o uso de HI é eficiente na detecção de anticorpos contra o vírus. Além disto, é o teste sorológico de referência, além de ser de fácil aplicação e baixo custo [43]. Entretanto, quando utilizado como ferramenta para avaliação do perfil sorológico do plantel, torna-se uma prova laboriosa. Além disto, não existe padronização dos parâmetros relacionados à temperatura de incubação, espécie e idade do doador de hemácias e tratamento prévio da amostra, o que interfere na repetibilidade dos resultados [35]. Desta forma, o diagnóstico sorológico com o emprego do ELISA vem sendo utilizado em vários países, pois, além de dispensar o tratamento prévio das amostras pode ser padronizado e automatizado [22,69]. Contudo, esta técnica ainda não é aplicada na rotina diagnóstica no Brasil, fato que, se utilizada, poderia facilitar o diagnóstico da doença e permitir o estabelecimento com maior agilidade do perfil sorológico das granjas brasileiras.

No Brasil, já foram realizados levantamentos sorológicos utilizando HI, em criações comerciais antes do uso comum da vacina [19] e após seu uso [2,35] e em criações rústicas para fins de subsistência [72], contudo todas antes da presença do PCV2. Em todos os trabalhos, foram obtidas elevadas porcentagens de animais com títulos heterogêneos anti-PVS. Assim como em relatos de outros países, a maioria destes estudos sorológicos não

apresenta outros parâmetros reprodutivos, tornando uma avaliação sobre a vacina ou cepas de campo circulantes difícil de ser realizada.

A partir do uso da vacina em quase todas as granjas, a interpretação do título de anticorpos passou a ser uma prática difícil. Estudos que realizaram a verificação sorológica de PVS em plantéis passaram a relatar a presença de imunidade na maioria dos animais (como esperado após a vacinação), entretanto, também a presença de títulos altos e muitas vezes heterogêneos passou a ser observada [58,59]. De uma forma geral, a distinção entre títulos vacinais e oriundos de desafios de campo poderia ser realizada através do nível de anticorpos, por que a estimulação humoral realizada pelas vacinas geralmente não excede títulos de 512 [58]. Entretanto, a impossibilidade de diferenciar anticorpos adquiridos passivamente de uma resposta ativa, juntamente com a falta de standardização de métodos sorológicos, dificulta este tipo de análise.

O isolamento viral pode ser utilizado para o diagnóstico devido ao efeito citopático, como inclusões intranucleares, núcleo picnótico, irregularidade no contorno, granulações, vacúolos citoplasmáticos, diminuição na velocidade de replicação e consequente morte celular [8,44,49]. O PVS apresenta boa afinidade por células de testículo e rim de leitões ou embriões. Como o cultivo celular primário apresenta maior risco de contaminação e proporciona um pequeno número de replicações celulares, as linhagens celulares, como a ESK, PK15, SK6, ST, STE e SPEV, vêm sendo utilizadas com boa sensibilidade para a replicação viral [45, 50, 96]. Entretanto, mesmo em células de linhagem, a técnica não é muito eficaz, pois a infecciosidade do vírus é diminuída ou inativada em tecidos fetais, principalmente mumificados, devido ao avançado estado de autólise [73]. Além disto, o PVS pode necessitar de sucessivas passagens até causar efeito citopático.

Outros métodos sorológicos também foram descritos, como a micro-aglutinação em tubo [28], imunodifusão em gel de ágar [84], imunofluorescência [71] e a aglutinação rápida em placa [36]. Entretanto nenhuma destas técnicas conseguiu comprovar a praticidade ou confiança a exemplo do HI e ELISA para o PVS.

O avanço nas pesquisas em biologia molecular possibilitou o desenvolvimento de métodos baseados na detecção de seqüências virais específicas. O primeiro método desenvolvido com esta tecnologia foi à hibridização de ácidos nucleicos [60]. Esta técnica possui boa sensibilidade e especificidade, mas, possivelmente, a necessidade do preparo de sondas específicas foi determinante para a baixa difusão deste método. Por sua vez, a PCR conseguiu associar sensibilidade, especificidade e praticidade. Duas técnicas de PCR para PVS estão descritas, uma americana e outra brasileira. Interessantemente, as duas técnicas apresentam alvos genômicos bem distintos, a americana é projetada para amplificar a região correspondente às proteínas VP [51], enquanto a brasileira é projetada para a região NS [80]. Da mesma forma, a técnica também têm sido estabelecida para detecção do vírus em tecidos de fetos abortados e natimortos [53,67,89] e em amostras de soro nas diferentes categorias animais [A.F. Streck, resultados não publicados]. Estes trabalhos relatam presença de positividade extremamente variada neste material, variando entre 5% a 95% conforme o trabalho. Apesar de utilizarem técnicas sensíveis como a PCR ou a nested-PCR, uma reação de autólise nos tecidos fetais poderia degradar as partículas virais, mascarando os resultados.

Atualmente, a PCR em tempo real têm sido descrita como uma forma eficiente de diagnóstico para PVS. Além de associar a sensibilidade e especificidade da PCR convencional, possui como vantagens a capacidade de quantificação e leitura automatizada [41,88]. Todavia, o custo elevado do equipamento e a dificuldade de estabelecimento de um banco de amostras padrão estão retardando sua difusão na rotina dos laboratórios de diagnósticos brasileiros.

Ainda como perspectiva, a técnica de micro-array pode vir a ser utilizada para o diagnóstico para PVS. A sua vantagem é a possibilidade de detecção simultânea de milhares de doenças, em um curto espaço de tempo. Até o momento, os relatos existentes na literatura sobre esta técnica estão focados principalmente no proteoma humano, sendo escassos os trabalhos para a detecção de patógenos de interesse veterinário [24,57].

Somando-se a isto, é imprescindível realizar o diagnóstico diferencial de outras doenças que causam problemas reprodutivos, como leptospirose, doença de Aujeszky, brucelose, PRRS, além de verificar a possível associação do PVS com PCV2. Em um estudo, no qual foram analisados diversos órgãos (pulmão, baço, fígado, linfonodo e rim) de suínos refugos por PCR, revelou 97% de animais positivos para PCV2 e 79% positivos para PVS. Todos os animais positivos para PVS foram positivos para PCV2, e os órgãos com maior número de positividade foram linfonodo e baço para ambos os vírus [18]. Em outro trabalho [D. Gava, resultados não publicados], 129 amostras de soro de leitões pertencentes à diferentes níveis sanitários (A: Saudável com baixo desafio para PCV2;

B: Saudável com alto desafio para PCV2 e C: Refugo e doente, com alto desafio para PCV2), foram avaliadas. Os resultados determinaram: Grupo A: 25,6% e 0%; Grupo B: 11,6% e 2,3%; Grupo C: 16,3% e 0%, positivos para PVS e para PCV2 respectivamente. Ao avaliarem estas mesmas amostras pela técnica de imunocitoquímica para PCV2, todos os grupos apresentaram animais positivos com títulos que variaram de 1:80 até 1:1280. Por sua vez, Pescador *et al.* [67] estudaram retrospectivamente (2005-2007) a associação de casos de abortos e natimortos com infecções por PCV2 e PVS. Entre as 121 amostras, 5,78% tinham lesões compatíveis com origem viral e foram positivos pelas técnicas de imunocitoquímica e PCR para PCV2. Além disso, 2,47% também foram confirmados como co-infectados com PVS através da PCR. Antígenos de PCV2 foram observados principalmente em macrófagos e no interior de miócitos dos fetos suínos abortados e natimortos. PCV2 e PVS foram detectados em amostras em diferentes estágios de gestação.

Controle

Uma vez que não existe qualquer referência específica quanto ao tratamento da infecção pelo PVS, as ações devem concentrar-se em medidas preventivas. Devem ser adotadas medidas de manejo gerais, a fim de promover um bom estado sanitário do rebanho [73]. Todas as ações tomadas vão ao encontro de estabelecer uma imunidade sólida no rebanho, com principal foco às nulíparas.

Como a infecção é endêmica, o controle deve ser baseado na vacinação. As primeiras vacinas desenvolvidas, ainda durante a década de 70, foram elaboradas com o vírus inativado [27,45,81]. Nos anos posteriores, a cepa NADL-2 passou a ser amplamente utilizada para a elaboração da vacina inativada, embora atualmente o tipo de cepa utilizada pela empresas farmacêuticas é considerado um segredo comercial e há poucas informações publicadas [7,68,92]. Ainda assim, as mudanças ocorridas na tecnologia para obtenção do antígeno, adjuvantes e conservantes nas vacinas inativadas possivelmente sejam as principais modificações realizadas [50,74,90].

Outras apresentações de vacinas têm sido desenvolvidas, como partículas recombinantes expressas em sistema baculovírus [1,39], recombinante expressando a proteína VP2, produzida em *Lactobacillus casei* [91] e uma vacina híbrida (PVS e PCV2), utilizando sistema *virus-like particles* (VLP) [63]. Apesar da tecnologia empregada nestes estudos, a vacina inativada continua a ser largamente utilizada devido a sua maior margem de segurança. No Brasil, só existem comercialmente vacinas inativadas, podendo ser monovalente ou combinada com antígenos de outros vírus e bactérias.

Tradicionalmente, a adoção de um bom programa de vacinação é considerada uma forma eficaz de controle da parvovirose suína [43,73]. Entretanto, em estudo verificando a atividade de neutralização gerada por cepas vacinais, foi observado que as cepas vacinais não conseguiram obter completa capacidade neutralizante frente a novas cepas circulantes na Europa [92]. As cepas vacinais do referido estudo são utilizadas há mais de 30 anos na Europa, podendo não possuir mais completa atividade protetora contra as novas variantes antigênicas. Em outro estudo, cinco novas seqüências de cepas brasileiras foram comparadas e analisadas filogeneticamente com todas as seqüências de PVS, porção VP1/VP2 do genoma, dispostas no GenBank [A.F. Streck, resultados não publicados]. Foi evidenciada que duas amostras do Brasil apresentam o aminoácido Thr no sítio 586, relacionado à virulência. A análise filogenética revelou a existência de apenas um grupamento consistente, composto por oito amostras chinesas. A análise por relógio molecular demonstrou que as mais recentes variações nos PVS ocorreram nos últimos três séculos e indicaram possivelmente que estas variações já existiam antes do advento da vacinação comercial para a parvovirose.

Idealmente, deveria ser avaliado o perfil sorológico do rebanho, com o objetivo de identificar se as nulíparas estão sendo imunizadas no período correto, e também se existe necessidade de revacinação das fêmeas mais velhas, evitando gastos desnecessários.

REFERÊNCIAS

- 1 Antonis A.F., Brusckhe C.J., Rueda P., Maranga L., Casal J.I., Vela C., Hilgers L.A., Belt P.B., Weerdmeester K., Carrondo M.J. & Langeveld J.P. 2006. A novel recombinant virus-like particle vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. *Vaccine*. 24: 5481-5490.
- 2 Barthasson D.L., Brito W.M.E.D., Sobestiansky J., Caixeta S.P.M.B., Tavares T.M., Silva L.A., Arantes G.C. & Ciacci-Zanella J.R. 2006. Detecção de infecção por parvovirus suíno e gastroenterite transmissível em suínos criados de forma extensiva do Estado de Goiás. In: *Anais do III Congresso Latino-Americano de Suinocultura* (Foz do Iguaçu, Brasil). p.125.

- 3 Bergeron J., Hébert B. & Tijssen P. 1996. Genome organization of the Kresse strain of porcine parvovirus: identification of the allotropic determinant and comparison with those of NADL-2 and field isolates. *Journal of Virology*. 70: 2508-2515.
- 4 Bersano J.G., Schotten M.H.S., Kroeff S.S.E. & Bastos G.M. 1993. Dados preliminares sobre a ocorrência de anticorpos para o parvovírus suíno no Estado de São Paulo. In: *Anais da Reunião Anual do Instituto Biológico* (São Paulo, Brasil). p.17.
- 5 Broll S., Waldvogel A.S., Roskopf M., Corboz L. & Pospischil A. 1993. The infectious causes of abortion and stillbirth in swine in Switzerland. *Zentralbl Veterinarmed*. 40: 641-653.
- 6 Brown T.T. 1981. Laboratory evaluation of selected disinfectants as virucidal agents against porcine parvovirus, pseudorabies virus, and transmissible gastroenteritis virus. *American Journal of Veterinary Research*. 42: 1033-1036.
- 7 Brown T.T., Whitacre M.D. & Robison O.W. 1987. Use of an inactivated vaccine for prevention of parvovirus-induced reproductive failure in gilts. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 190: 179-181.
- 8 Cartwright S.F. & Huck R.A. 1967. Viruses isolated in association with herd infertility, abortions and stillbirths in pigs. *Veterinary Record*. 81: 196-197.
- 9 Coackley W. & Smith V.W. 1972. Porcine parvovirus in Westerns Australia. *Australian Veterinary Journal*. 48: 536.
- 10 Cutlip R.C. & Mengeling W.L. 1975. Experimentally induced infection of neonatal swine with porcine parvovirus. *American Journal of Veterinary Research*. 36: 1179.
- 11 Dea S., Elazhary M.A., Martineau G.P. & Vaillancourt J. 1995. Parvovirus-like particles associated with diarrhea in unweaned piglets. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 49: 343-345.
- 12 Duhamel G.E., Bargar T.W., Schmitt B.J., Molitor T.W. & Lu W. 1991. Identification of parvovirus-like virus particles in intestinal crypt epithelial cells of pigs with diarrhea. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 3: 96-98.
- 13 Edwards K.R. & Thornton D.H. 1984. Tissue culture infectivity assay for porcine parvovirus. *Veterinary Record*. 115: 108.
- 14 Ellis J., Clark E., Haines D., West K., Krakowka S., Kennedy S. & Allan G.M. 2004. Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. *Veterinary Microbiology*. 98: 159-163.
- 15 Fenati M., Armadori E., Corrain R. & Guberti V. 2008. Indirect estimation of porcine parvovirus maternal immunity decay in free-living wild boar (*Sus scrofa*) piglets by capture-recapture data. *The Veterinary Journal*. 180: 262-264.
- 16 Fernandes L.T., Ciacci-Zanella J.R., Sobestiansky J., Schiochet M.F. & Trombetta C. 2006. Coinfecção experimental de circovírus suíno tipo 2 isolado do Brasil e parvovírus suíno em suínos SPF. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 58: 1-8.
- 17 Foni E. & Gualandi G.L. 1989. A serological survey of swine parvovirus infection in Italy. *Microbiologica*. 12: 241-245.
- 18 Gonçalves K.R., Souza C.K., Streck A.F., Almeida L.L., Rodenbusch C.R., Macagnan M., Ravazzolo A.P. & Canal C.W. 2007. Estudo da ocorrência de parvovírus suíno e correlação com circovírus suíno tipo 2 em leitões refugos. In: *Anais do XIX Salão de Iniciação Científica da UFRGS* (Porto Alegre, Brasil). p.30.
- 19 Gouvêia A.M.G., Gomez M.C. & Reis R. 1984. Alterações reprodutivas e prevalência de anticorpos inibidores de hemaglutinação para o parvovírus suíno no estado de Minas Gerais. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 4: 17-22.
- 20 Gradil C., Molitor T., Harding M. & Crabo B. 1990. Excretion of porcine parvovirus through the genital tract of boars. *American Journal of Veterinary Research*. 51: 359-362.
- 21 Hijisaka M., Abe K., Win K.M., Shimizu Y.K., Keicho N. & Yoshikura H. 2001. Identification of new parvovirus DNA sequence in swine sera from Myanmar. *Japanese Journal of Infection and Disease*. 54: 244-245.
- 22 Horwitz M.S. 1996. Parvoviridae: The Viruses and Their Replication. In: Fields B.N., Knipe D.M. & Howley P.M. (Eds). *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott- Raven, 2587p.
- 23 International Committee on Taxonomy of Viruses. 2008. National Center for Biotechnology Information. *Taxonomy and index to virus classification and nomenclature taxonomic lists and catalogue of viruses*. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>>. Acessado em: 11/2008.
- 24 Jack P.J., Amos-Ritchie R.N., Reverter A., Palacios G., Quan P.L., Jabado O., Briese T., Ian Lipkin W. & Boyle D.B. 2009. Microarray-based detection of viruses causing vesicular or vesicular-like lesions in livestock animals. *Veterinary Microbiology*. 133: 145-153.
- 25 Johnson R.H. & Collings D.F. 1971. Transplacental infection of piglets with a porcine parvovirus. *Research in Veterinary Science*. 12: 570-572.
- 26 Johnson R.H., Donaldson-Wood C. & Allender U. 1976. Observations on the epidemiology of porcine parvovirus. *Australian Veterinary Journal*. 52: 80-84.
- 27 Joo H.S. & Johnson R.H. 1977. Serological response in pigs vaccinated with inactivated porcine parvovirus. *Australian Veterinarian Journal*. 53: 550-553.
- 28 Joo H.S., Donaldson-Wood C.R. & Johnson R.H. 1975. A microneutralization test for the assay of porcine parvovirus antibody. *Archives of Virology*. 47: 337-341.
- 29 Joo H.S., Donaldson-Wood C.R. & Johnson R.H. 1976. A standardized haemagglutination inhibition test for porcine parvovirus antibody. *Australian Veterinary Journal*. 52: 422-444.
- 30 Kennedy S., Moffett D., Mcneilly F., Meehan B., Ellis J., Krakowka S. & Allan G.M. 2000. Reproduction of lesions of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine

Gava D. *et al.* 2009. Atualização sobre a parvovirose na suinocultura.

Acta Scientiae Veterinariae. 37 (Supl 1): s105-s115.

- parvovirus. *Journal of Comparative Pathology*. 122: 9-24.
- 31 Kresse J.I., Taylor W.D., Stewart W.W. & Eernisse K.A. 1985. Parvovirus infection in pigs with necrotic and vesicle-like lesions. *Veterinary Microbiology*. 10: 525-531.
- 32 Ladekjaer-Mikkelsen A.S. & Nielsen J. 2002. A longitudinal study of cell-mediated immunity in pigs infected with porcine parvovirus. *Viral Immunology*. 15: 373-384.
- 33 Lau S.K.P., Woo P.C.Y., Tse H., Fu C.T.Y., Au W., Chen X., Tsoi H., Tsang T.H.F., Chan J.S.Y., Tsang D.N.C., Li K.S.M., Tse C.W.S., Ng T., Tsang O.T.Y., Zheng B., Tam S., Chan K., Zhou B. & Yuen K. 2008. Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus 4. *Journal of General Virology*. 89: 1840-1848.
- 34 Lenghaus C., Forman A.J. & Hale C.J. 1978. Experimental infection of 35, 50 and 60 day old pig foetuses with porcine parvovirus. *Australian Veterinary Journal*. 54: 418.
- 35 Lobato Z.I.P. 1992. Evaluation of serological response of pigs immunized against porcine parvovirus with an experimental inactivated vaccine and by the feedback method. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 44: 155-156.
- 36 Lü J., Zhao J., Fang L., He Q., Cao S. & Chen H. 2006. A slide latex agglutination test for the rapid detection of antibodies in serum against porcine parvovirus. *Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 53: 59-61.
- 37 Lucas M.H., Cartwright S.F. & Wrathall A.E. 1974. Genital infection of pigs with porcine parvovirus. *Journal of Comparative Pathology*. 84: 347-350.
- 38 Lyoo K., Park Y. & Park B. 2001. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus from aborted fetuses and pigs with respiratory problems in Korea. *Journal of Veterinary Science*. 2: 201-207.
- 39 Maranga L., Rueda P., Antonis A.F., Vela C., Langeveld J.P., Casal J.I. & Carrondo M.J. 2002. Large scale production and downstream processing of a recombinant porcine parvovirus vaccine. *Applied Microbiology & Biotechnology*. 59: 45-50.
- 40 Martins R.M., Roehe P.M., Guimarães L.J. & Rangel E.V. 1984. Sorologia de parvovírus suíno em granjas do estado de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. In: *Anais do V Congresso Nacional de Veterinários Especialistas em Suínos* (Curitiba, Brasil). p.39.
- 41 McKillen J., Hjertner B., Millar A., Mcneilly F., Belák S., Adair B. & Allan G. 2007. Molecular beacon real-time PCR detection of swine viruses. *Journal of Virological Methods*. 140: 155-165.
- 42 Mengeling W.L. & Cutlip R.C. 1976. Reproductive disease experimentally induced by exposing pregnant gilts to porcine parvovirus. *American Journal of Veterinary Research*. 37: 1393-1400.
- 43 Mengeling W.L. 1999. Porcine Parvovirus. In: Straw B.E., D'Alaire S., Mengeling W.L. & Taylor D.J. (Eds). *Diseases of Swine*. 8.ed. Ames: Iowa State University Press, pp.119-124.
- 44 Mengeling W.L. 1972. Porcine parvovirus: properties and prevalence of a strain isolated in the United States. *American Journal of Veterinary Research*. 33: 2239-2248.
- 45 Mengeling W.L. 1979. Prenatal infection following maternal exposure to porcine parvovirus on either the seventh or fourteenth day of gestation. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 43: 106.
- 46 Mengeling W.L., Brown T.T., Paul P.S. & Gutekunst D.E. 1979. Efficacy of an inactivated virus vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. *American Journal of Veterinary Research*. 40: 204-207.
- 47 Mengeling W.L., Cutlip R.C., Wilson R.A., Parks J.B. & Marshall R.F. 1975. Fetal mummification associated with porcine parvovirus infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 166: 993-995.
- 48 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. *Animal Reproduction Science*. 60: 199-210.
- 49 Miranda A.C.C., Reis R. & Leite R.C. 1992. Avaliação da sensibilidade de linhagens celulares ao parvovirus suínos (PVS). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 43: 297-310.
- 50 Molitor T.W., Joo H.S. & Thacker B.J. 1985. Potentiating effect of adjuvants on humoral immunity to porcine parvovirus vaccines in guinea pigs. *Veterinary Microbiology*. 10: 209-128.
- 51 Molitor T.W., Oraveerakul K., Zhang Q.Q., Choi C.S. & Ludemann L.R. 1991. Polymerase chain reaction (PCR) amplification for the detection of porcine parvovirus. *Journal of Virological Methods*. 32: 201-211.
- 52 Moraes M.P. & Costa P.R.S. 2007. Parvoviridae. In: Flores E.F. (Ed). *Virologia Veterinária*. Santa Maria: Editora UFSM, pp.377-396.
- 53 Moreno A.M., Paixão R., Oliveira Júnior F.T.T., Gobi D.D., Novita S.M., Coutinho T.A. & Baccaro M.R. 2007. Agentes causadores de mumificação fetal, natimortalidade e abortamento em suínos no Brasil. In: *Anais do XIII Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos* (Florianópolis, Brasil). pp.249-252.
- 54 Morimoto T., Kurigi H., Miura Y., Sugimori T. & Fujisaki Y. 1972. Isolation of Japanese encephalitis virus and hemagglutinating DNA virus from the brain of still born piglets. *National Institute of Animal Health*. 12: 127-136.
- 55 Morón G., Rueda P., Sedlik C. & Leclerc C. 2003. In vivo, dendritic cells can cross-present virus-like particles using an endosome-to-cytosol pathway. *The Journal of Immunology*. 171: 2242-2250.
- 56 Obaldia N. 1991. Outbreaks of porcine parvovirus disease in Panama. *Tropical Animal Health and Production*. 23: 181-185.
- 57 Ojha S. & Kostrzynska M. 2008. Examination of animal and zoonotic pathogens using microarrays. *Veterinary Research*. 39: 4.
- 58 Oravainen J., Hakala M., Rautiainen E., Veijalainen P., Heinonen M., Tast A., Virolainen J.V. & Peltoniemi O.A.T. 2006. Parvovirus antibodies in vaccinated gilts in field conditions - results with HI and ELISA tests. *Reproduction in Domestic Animals*. 41: 91-93.

- 59 Oravainen J., Heinonen M., Tast A., Virolainen J. & Peltoniemi O. 2005. High porcine parvovirus antibodies in sow herds: prevalence and associated factors. *Reproduction of Domestic Animals*. 40: 57-61.
- 60 Oraveerakul K., Choi C.S. & Molitor T.W. 1990. Detection of porcine parvovirus using nonradioactive nucleic acid hybridization. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2: 85-91.
- 61 Oraveerakul K., Choi C.S. & Molitor T.W. 1992. Restriction of porcine parvovirus replication in nonpermissive cells. *Journal of Virology*. 66: 715-722.
- 62 Oraveerakul K., Choi C.S. & Molitor T.W. 1993. Tissue tropisms of porcine parvovirus in swine. *Archives of Virology*. 130: 377-389.
- 63 Pan Q., He K. & Huang K. 2008. Development of recombinant porcine parvovirus-like particles as an antigen carrier formed by the hybrid VP2 protein carrying immunoreactive epitope of porcine circovirus type 2. *Vaccine*. 26: 2119-2126.
- 64 Paul P.S., Mengeling L.W. & Pirtle E.C. 1982. Duration and biological half-life of passively acquired colostral antibodies to porcine parvovirus. *American Journal of Veterinary Research*. 43: 1376-1379.
- 65 Paul P.S., Mengeling W.L. & Brown T.T. 1980. Effect of vaccinal and passive immunity on experimental infection of pigs with porcine parvovirus. *American Journal of Veterinary Research*. 41: 1368-1371.
- 66 Paul P.S., Mengeling W.L. & Brown T.T. 1979. Replication of porcine parvovirus in peripheral blood lymphocytes, monocytes, and peritoneal macrophages. *Infection and Immunity*. 25: 1003-1007.
- 67 Pescador C.A., Bandarra P.M., Castro L.A., Antoniassi N.A.B., Ravazzolo A.P., Sonne L., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2007. Co-infection by porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus in aborted fetuses and stillborn piglets in southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 27: 425-429.
- 68 Pye D., Bates J., Edwards S.J. & Hollingworth J. 1990. Development of a vaccine preventing parvovirus-induced reproductive failure in pigs. *Australian Veterinary Journal*. 67: 179-182.
- 69 Qing L., Lv J., Li H., Tan Y., Hao H., Chen Z., Zhao J. & Chen H. 2006. The recombinant nonstructural polyprotein NS1 of porcine parvovirus (PPV) as diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated pigs. *Veterinary Research Communications*. 30: 175-190.
- 70 Rivera E., Concha C., Bragança M., Gunnarsson A. & Karlsson K.A. 1995. Acute outbreak of porcine parvovirus infection in Mozambique. *Tropical Animal Health and Production*. 27: 217-220.
- 71 Rivera E., Sjöland L. & Karlsson K.A. 1986. A solid phase fluorescent immunoassay for the rapid detection of virus antigen or antibodies in fetuses infected with porcine parvovirus. *Archives of Virology*. 88: 19-26.
- 72 Rodríguez C.A.R., Homem V.S.F., Heinemann M.B., Ferreira Neto J.S., Richtzenhain L.J. & Soares R.M. 2003. Soroprevalência de anticorpos anti-parvovirus suíno em suínos do município de Uruará, estado do Pará. *Arquivo do Instituto Biológico*. 70: 501-503.
- 73 Roehle P.M., Sobestiansky J. & Barcellos D.E.S.N. 2007. Parvovirose. In: Sobestiansky J. & Barcellos D.E.S.N. (Eds). *Doenças de Suínos*. Goiânia: Cãnone Editorial, pp.286-293.
- 74 Roic B., Cajavec S., Ergotic N., Lipej Z., Madic J., Lojkić M. & Pokrić B. 2006. Immune complex-based vaccine for pig protection against parvovirus. *Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 53: 17-23.
- 75 Roic B., Cajavec S., Tonicic J., Madic J., Lipej Z., Jemersic L., Lojkić M., Mihaljevic Z., Cac Z. & Sostarić B. 2005. Prevalence of antibodies to porcine parvovirus in wild boars (*Sus scrofa*) in Croatia. *Journal of Wildlife Diseases*. 41: 796-799.
- 76 Rueda P., Morón G., Sarraseca J., Leclerc C. & Casal J.I. 2004. Influence of flanking sequences on presentation efficiency of a CD8⁺ cytotoxic T-cell epitope delivered by parvovirus-like particles. *Journal of General Virology*. 85: 563-572.
- 77 Ruiz-Fons F., Vicente J., Vidal D., Höfle U., Villanúa D., Gauss C., Segalés J., Almería S., Montoro V. & Gortázar C. 2006. Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: the effect on wild boar female reproductive performance. *Theriogenology*. 65: 731-743.
- 78 Soares R.M., Cortez A., Heinemann M.B., Sakamoto S.M., Martins V.G., Bacci M., Campos F.M. & Richtzenhain L.J. 2003. Genetic variability of porcine parvovirus isolates revealed by analysis of partial sequences of the structural coding gene VP2. *Journal of General Virology*. 84: 1505-1515.
- 79 Soares R.M., Durigon E.L., Bersano J.G. & Richtzenhain L.J. 1999. Detection of porcine parvovirus DNA by the polymerase chain reaction assay using primers to the highly conserved nonstructural protein gene, NS-1. *Journal of Virological Methods*. 78: 191-198.
- 80 Soucie J.M., Erdman D.D., Evatt B.L., Anderson L.J., Torok T.J., El-Jamil M., Barnhart E., Tepper M., Burriel H.N., Pickett A.M. & Mengeling W.L. 2000. Investigation of porcine parvovirus among persons with hemophilia receiving Hyate: C porcine factor VIII concentrate. *Transfusion Complications*. 40: 708-711.
- 81 Suzuki H. & Fujisaki Y. 1976. Immunizing effects of inactivated porcine parvovirus vaccine on piglets. *Bulletin of the National Institute of Animal Health*. 72: 17-23.
- 82 Thacker B.J., Joo H.S., Winkelman N.L., Leman A.D. & Barnes D.M. 1987. Clinical, virologic, and histopathologic observations of induced porcine parvovirus infection in boars. *American Journal of Veterinary Research*. 48: 763-767.
- 83 Too H.L. & Love R.J. 1986. Some epidemiological features and effects on reproductive performance of endemic porcine parvovirus infection. *Australian Veterinary Journal*. 63: 50-53.
- 84 Too H.L., Seaman J.T., Littlejohns I.R. & Love R.J. 1983. Evaluation of a gel diffusion precipitin test for porcine parvovirus. *Australian Veterinary Journal*. 60: 161-165.

Gava D. *et al.* 2009. Atualização sobre a parvovirose na suinocultura.

Acta Scientiae Veterinariae. 37 (Supl 1): s105-s115.

- 85 Vallet J.L. & Freking B.A. 2007. Differences in placental structure during gestation associated with large and small pig fetuses. *Journal of Animal Science*. 85: 3267-3275.
- 86 Waldvogel A.S., Broll S., Roskopf M., Schwyzer M., & Pospischil A. 1995. Diagnosis of fetal infection with porcine parvovirus by in situ hybridization. *Veterinary Microbiology*. 47: 377-385.
- 87 Wilhelm S., Zeeuw E.J.L., Selbitz H.J. & Truyen U. 2005. Tissue distribution of two field isolates and two vaccine strains of porcine parvovirus in foetal organs after experimental infection of pregnant sows as determined by real-time PCR. *Journal of Veterinary Medicine B*. 52: 323-326.
- 88 Wilhelm S., Zimmermann P., Selbitz H.J. & Truyen U. 2006. Real-time PCR protocol for the detection of porcine parvovirus in field samples. *Journal of Virological Methods*. 134: 257-260.
- 89 Wolf V.H.G., Menossi M., Mourão G.B. & Gatti M.S.V. 2008. Molecular basis for porcine parvovirus detection in dead fetuses. *Genetics and Molecular Research*. 7: 509-517.
- 90 Wrathall A.E., Wells D.E., Cartwright S.F. & Frerichs G.N. 1984. An inactivated, oil emulsion vaccine for the prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. *Research in Veterinary Science*. 36: 136-143.
- 91 Yigang X.U. & Yijing L.I. 2008. Construction of recombinant *Lactobacillus casei* efficiently surface displayed and secreted porcine parvovirus VP2 protein and comparison of the immune responses induced by oral immunization. *Immunology*. 124: 68-75.
- 92 Zeeuw E.J.L., Leinecker N., Herwig V., Selbitz H.J. & Truyen U. 2007. Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts. *Journal of General Virology*. 88: 420-427.
- 93 Zimmermann P., Ritzmann M., Selbitz H.J., Heinritzi K. & Truyen U. 2006. VP1 sequences of German porcine parvovirus isolates define two genetic lineages. *Journal of General Virology*. 87: 295-301.

4.2 Artigo 2- “Relationship between porcine parvovirus antibody titers in serum and colostrum from vaccinated sows, and duration of passive immunity in their suckling pigs”

Artigo a ser publicado

Relationship between porcine parvovirus virus antibody titers in serum and colostrum from vaccinated sows, and duration of passive immunity in their suckling pigs.

Danielle Gava¹; Carine Kunzler Souza²; Tiago José Mores¹; Laura Espíndola Argenti¹; André Streck²; Cláudio Wageck Canal²; Fernando Pandolfo Bortolozzo¹; Ivo Wentz¹

Complete Address:

1. Setor de Suínos, Faculty of Veterinary Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil¹
2. Laboratório de Virologia, Faculty of Veterinary Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil²

Abstract

This study was conducted to determine the antibody response for porcine parvovirus (PPV) of 127 gilts in field conditions after vaccination, the transfer of passive immunity and to estimate the decay of acquired colostrum antibodies to PPV in the littermate. Gilts were bled at: (A) before the first vaccination to PPV, (B) after the second dose; (C) at farrowing and (D) during the second pregnancy. Colostrum (E) was also collected at farrowing time. Three piglets of each gilt were selected and blood samples were collected: prior to initial colostrum intake, 7, 21, 57, 87 and 128 day-old, in order to verify the decrease of passive immunity and estimate the half-life of PPV antibodies. The number of mummified fetus, stillbirths, born alive and total born were analyzed. The PPV antibodies were tested both with haemagglutination inhibition (HI) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in order to study the agreement between these methods. The possible association between gilts and piglets antibody titers in serum and colostrum with reproductive data was also investigated. Most gilts (85.83%) had antibodies to PPV before vaccination, but after vaccine, all gilts seroconverted. At 7 day-old most part of piglets had PPV antibodies and around 57 days-old only 35.29% of piglets were positive, reaching the PPV antibodies nullity at 87 days-old. The estimated average half-life of acquired colostrum antibodies was 29.80 days. The correlation between piglets serum with gilt serum at farrowing time was $r=0.77$ ($P<0.001$) and with colostrum the r value was 0.72 ($P<0.001$). The agreement between ELISA and HI tests was moderate to strong ($R^2= 0.67$ and Spearman's $\rho= 0.89$). The only difference between first and second parturition was observed on mummified fetuses ($P<0.001$).

Keywords: Porcine parvovirus, PPV, passive immunity, half-life, ELISA.

Introduction

Porcine parvovirus (PPV) is a DNA virus, member of the genus Parvovirus, family Parvoviridae and is widespread among swine throughout the world (RANZ et al., 1989; HORWITZ, 1996). The virus infection apparently produces no clinical disease in the dam. However, infection of pregnant gilts and sows with PPV causes reproductive failure characterized by embryonic and fetal death, mummification, stillbirths, and delayed return to oestrus (MENGELING et al., 1975; LENGHAUS et al., 1978; MENGELING, 1999). More recently, PPV has gained importance as an agent able to enhance the effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection during the clinical course of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) (KRAKOWKA et al., 2000; ELLIS et al., 2004), a disease of significant economic importance worldwide (SEGALÉS et al., 2005). Because of its association with the clinical and pathological conditions above, PPV is recognized as an important economic cause of reproductive failure.

Clinical diagnosis of PPV infection is difficult because the main signs of disease are similar to those of other diseases. Due to that, laboratory confirmation is required for suspected cases (MENGELING, 1999). Detection of PPV has been based on virus isolation (CARTWRIGHT & HUCK, 1967; MENGELING, 1972, ORAVEERAKUL et al., 1992), latex agglutination (LU et al., 2006), hemagglutination inhibition (HI) (JOO et al., 1976), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (MADSEN et al., 1997; DAMM et al., 2002; QING et al., 2006), polymerase chain reaction (PCR) (MOLITOR et al., 1991; SOARES et al., 1999) and Real Time PCR (WILHELM et al., 2006; CHEN et al., 2009; SONG et al., 2010). Various serological tests are available for the detection of antibodies to the virus, but HI technique is the gold standard. Despite the HI test being a relatively inexpensive serologic assay, the labor intensiveness of the test is a major obstacle to its use on a large scale (MENGELING et al., 1999). Recently, a commercial ELISA has been developed for detecting antibody to PPV, and an agreement between these two tests is therefore of great interest.

To prevent the losses caused by PPV infection, the basic requirement is that all pigs intended for breeding should have immunity to the virus before they reach mating age (WRATHALL et al., 1984). Vaccination is an effective way of preventing reproductive losses in gilts (WRATHALL et al., 1984, PAUL & MENGELING, 1986; SORENSEN et al., 1988) and is a

cost effective decision to vaccinate all females in a herd (PARKE & BURGESS, 1993). Otherwise, since there is no transmission of maternal antibodies across the placental barrier, newborn pigs are devoid of antibodies (SALMON, 1984; SALMON et al., 2009). Piglets are dependent on the uptake of colostral maternal antibodies and acquire high levels of circulating antibodies by ingesting immunoglobulin, mainly IgG, during the first 24-36 hours of life (BROWN et al., 1961; BUTLER et al., 1981). These passively acquired antibodies protect pigs against many diseases during the early part of their lives. Since passively acquired antibodies have been shown to interfere with the development of active immunity following vaccination, the duration of passive immunity to PPV must be known to determine the optimal age of pigs for successful vaccination.

It is interesting that, although many studies have been done with PPV, little information is available about the effect of PPV vaccination and residual amounts of passive antibodies. Added to this, no data is available regarding the porcine parvovirus virus antibody titers in serum and colostrum from vaccinated sows, and duration of passive immunity in their suckling pigs after the emergence of PCV2. The aim of this study is to elucidate the association between dam (serum and colostrum) and piglets PPV antibodies, and to estimate the rate of decay of acquired colostral antibodies to PPV in pigs using a commercial ELISA test in comparison to HI test.

Materials and Methods

Experimental Design and Sampling

A hundred and twenty-seven gilts were randomly selected from a higher health status herd in south Brazil, and blood samples were collected at four different moments: (A) before the first vaccination to PPV, at the age of 170 days; (B) fifteen days after the second dose; (C) at farrowing; (D) during the second pregnancy. Colostrum (E) was collected from a pool of cranial, medial and caudal teats at farrowing time. Three piglets of each gilt were selected and blood samples were collected six times, at the following ages: (i) prior to initial colostrum intake; (ii) at seven day-old; (iii) at 21 day-old, before the weaning; (iv) at 57 day-old; (v) at 87 day-old; (vi) at 128 day-old.

The number of mummified fetus, stillbirths, born alive and total born were analyzed for first and second parturition. A tissue sample of brain, lung, heart, thymus, liver, spleen, lymph node, kidney, intestine and muscle from all mummified and stillbirths were collected to analyze by histopathology. Heart and muscle samples were tested by immunohistochemistry (IHQ) to PCV2 and kidneys were tested by immunofluorescence (IF) to *Leptospira* sp.

Laboratory analyses

The serum, separated after centrifugation, was maintained at -20°C until analysis. The same procedure was done with colostrum to remove the colostrum's fat. Antibodies to PPV were measured in all samples using an indirect ELISA (Ingezim PPV 1.1.PPV.K.1[®], Ingenasa, Espanha). The S/P rate was calculated and the cut-off values of ELISA test were given by the manufacturer: ≤ 0.300 negative and > 0.300 positive.

The ELISA test was compared with HI test, using a set of serum samples from animals with known status of parvovirus antibodies profile. A hundred eighty samples were selected, 80 positive and 80 negative, based on ELISA results, including different optical densities (OD), according to the age and vaccination. A previous positive and a negative sample were included, and all samples were tested by HI (JOO et al., 1976). The samples were considered negative on HI test when the titers were ≤ 32 , undefined =64 and positive ≥ 128 .

Gilts and piglets serum samples (A and i) that were ELISA positive, were submitted to a nested-PCR (SOARES et al., 1999) and real time PCR for PPV detection (SONG, 2010).

Statistical analysis

Frequency distribution for reproductive data was obtained with the FREQ procedure. The statistical analysis of gilts and piglets ELISA results was performed by CORR procedure. The ELISA test results and mummified fetus, stillbirths and born alive from first and second parturition were analyzed by GLM procedure and means were compared using Tukey test, with 5% of significance level (SAS, 2005).

To determine the cut-off of ELISA and HI test, maximizing the sensibility (SE) and specificity (SP) values, the ROC curve (*Receiver Operating Characteristic*) with 95% of confidence interval was calculated. A regression curve was fitted using the equation $y = a + bx$, where $y = \text{OD}$ e $x = \text{HI natural logarithm (ln)}$, in order to verify the correlation between the two tests. This correlation was also calculated using the correlation coefficient (ρ) of Spearman Rank, with 95% of confidence interval.

Based on ELISA results, a linear regression curve was fitted to the natural logarithm (ln) of the OD. Antibodies half-life was estimated using the equation: $h = -(ln2)/b$, where h is the antibody half-life and b is the slope of the regression line, using a 95% of confidence interval (BRYAN et al., 1990).

Results

ELISA and HI results and correlation

The percentage of positive and negative samples from gilts and piglets at ELISA test are shown on Table 1. Only 14.17% of gilts were negative before the first vaccination, but these females seroconverted after second vaccination, where all gilts became positive before breeding. At farrowing time, despite a few gilts showed low levels of PPV antibodies, all of them were able to transfer the antibodies to the littermate by the colostrum ingestion. On the second pregnancy, after a third PPV dose, a great number of females had antibodies against PPV. However, there was a significant difference between antibodies titers on the first and second pregnancy ($P < 0.05$).

Almost all piglets were negative before suckling as expected. Seven days after the most part of them serum converted and the immunity level remained high until the weaning. After this, the passive immunity started to decay and around 57 day-old only 35.29% of piglets showed antibodies and at 87 day-old, none piglet had PPV antibodies (Figure 1).

The correlation between piglets serum at 7 day-old (ii) and at 21 day-old (iii) with gilt serum at farrowing time (C) was $r=0.77$ and $r=0.73$, respectively ($P < 0.001$). Analyzing this correlation with colostrum (E) the r value was 0.72 (ii) and 0.64 (iii) ($P < 0.001$). Even high, PPV antibody in gilt serum (1.27 ± 0.47) is lower than that of colostrum (1.60 ± 0.37).

There was a general agreement between ELISA and HI. The ROC curve had the cut-off on OD at 0.340, resulting in a 93.8% of SE and 98.5% of SP ($R^2 = 0.67$). The Spearman's correlation coefficient (ρ) was 0.89.

Reproductive data and complementary laboratory analysis

The mean, standard deviation and amplitude for OD (ELISA test), mummified fetus, stillbirths, born alive and total born for the first farrow and second farrow were described on Table 2. Comparing first and second farrow, there was no difference between stillbirths and born alive, but there was on OD and mummified fetuses, influencing on total born ($P < 0.001$).

Nested-PCR and real time PCR were negative to PPV for 112 samples (group A and i) that were positive on ELISA test. As well as, any mummified or stillbirth fetus presented suggestive histological lesion of PPV infection, none were positive to PCV2 by IHQ or positive to *Leptospira* sp by IF.

Antibody half-life

The biological half-life of antibodies to PPV, calculated from the data obtained over the experimental period (0 to 128 day-old) was 29.80 (confidence limits, 28.80 to 30.87) days (Figure 2).

Discussion

Porcine parvovirus vaccines have been available since the late 1980s (WRATHALL et al., 1984; PAUL & MENGELING, 1986), and maternal immunization is commonly used in veterinary medicine to increase passive antibody transfer from the mother to the offspring (SALMON et al., 2009). The first recommended step before using a vaccination procedure is to know the real immunological profile (JOO & JOHNSON, 1977), but this is not used as a routine. As observed, 85.83% of gilts had antibodies to PPV, however interpretation of antibodies titers is difficult, as practically all farms vaccinate against PPV nowadays, as well PPV is ubiquitous among swine throughout the world (SORENSEN et al., 1988; MENGELING et al., 1999). Usually, antibodies titers originated from a PPV vaccine are lower than a natural infection. Probably in the future, a NS1 protein deleted vaccine could help to distinguish vaccinated from infected pigs, since NS1 protein is only produced during infection of PPV (MADSEN et al., 1997; QING et al., 2006).

The passively transferred maternal antibodies may interfere with the effects of active immunization, delaying the development of active immune responses (KLOBASA et al., 1981; PAUL & MENGELING, 1986). Maternal antibodies have been shown to interfere with active vaccination in various species including humans, cattle and pigs, and such interactions have been observed for various types of vaccines, including live attenuated vaccines and inactivated vaccines (WILSON, 1974; KLOBASA et al., 1981; BOERSEMA et al., 1998; SALMON et al., 2009). However, an important data was observed when we analyzed the gilts PPV antibodies profile after two vaccine doses (B). We evidenced that all females had antibodies and independent of antibodies levels, all of them were able to protect the littermate against PPV infection. Numerous studies have demonstrated that immunization of susceptible gilts with PPV vaccine effectively prevents the intrauterine establishment of parvovirus infection and fetal damage (PAUL et al., 1980; BROWN et al., 1987; PYE et al., 1990; ANTONIS et al., 2006). Added to this, gilts that presented low, median or high antibodies levels to PPV were equally capable to prevent an intrauterine infection (MENGELING et al., 1979; PAUL et al., 1980; LOBATO et al., 1993).

The porcine placenta consists of six tissue layers and is classified as diffuse epitheliochorial that does not allow transport of immunoglobulins from the dam to the fetus (SALMON, 1984; SALMON et al., 2009). Therefore, the neonatal piglet is agammaglobulinemic at birth and immunity is acquired through consumption of colostrum which contributes to protection of pigs against infectious diseases during their first part of life. Thus, it is crucial that the newborn piglet acquires immunoglobulins via intestinal absorption of ingested colostrum to the blood stream. This happens within the first 18–48 h of the piglets' life, after which the gut closes for transmission of macromolecules (BROWN et al., 1961; BUTLER et al., 1981; SALMON, 1984).

By the time of parturition, antibodies of the isotype G (IgG) are transferred from the sow's serum to the udder, and serum-derived antibodies accounts for almost all antibodies secreted in the colostrum (BOURNE & CURTIS, 1973; KLOBASA et al., 1985). Based on that, passive immunity is primarily dependent on the antibody titer of the mother and on the amount of colostrum ingested by the newborn. This study showed a strong correlation between passively acquired antibody concentrations in piglets and the serological status and colostrums antibody concentration of the dam. It agrees with a study of Paul et al. (1982) and Damm et al. (2002), and a large difference in serum antibody titers against PPV may occur in piglets from the same litter (DAMM et al., 2002; FENATI et al., 2009).

The degree of acquired maternal immunity can be assessed by measuring the level of antibody of piglets in relation to the level of antibody titer in the sow (KLOBASA et al., 1981; DAMM et al., 2002). The development of specific antibodies against PPV has been demonstrated after infection as well as after vaccination (MENGELING, 1979; LOBATO et al., 1993; MENGELING, 1999). After immunization, PPV antibodies can be detected in serum and colostrum from sows and in piglets after they have sucked, but not before (JOO and JOHNSON, 1977; PAUL et al., 1982; DAMM et al., 2002; ORAVAINEN et al., 2005; ORAVAINEN et al., 2006). It is clearly seen when we analyze Figure 1. The high level of antibodies against PPV was achieved around seven day-old (ii) and after that the immunity curve started to decay and around 87 days-old (v), antibodies were not detected. In previous studies, the passively acquired antibodies to PPV were undetectable by three to six months of age (JOHNSON et al., 1976; PAUL et al., 1982). Even susceptible, pigs were incapable to infect with PPV during three to five weeks due to lower titers of neutralizing antibodies (JOHNSON et al., 1976). Conversely, according to another study, pigs were susceptible to PPV infection as early as one week after they became seronegative (PAUL et al., 1982).

The half-life of passively acquired colostral antibodies to PPV were 29.80 days (28.80 - 30.87) (Figure 2). The half-life of maternal antibodies for PPV in domestic pigs was reported to be 21.2 days (16-24) (PAUL et al., 1982) and to wild boar 23 days (22-26) (FENATI et al., 2009). Half-lives for other viral diseases were reported to be 16.20 for PRRS (SEEN et al., 2010), 21 days for pseudorabies 11 days for classic swine fever, and 9.34 days for rabies (MULLER et al., 2005). The decrease in the concentration of acquired colostral antibodies in serum is a function of protein catabolism, dilution due to increased body size and hence increased blood volume and loss to other compartments (PAUL et al., 1982). However, some changes on swine herds management, the use of PPV vaccination and other vaccines, and the emerging of PCV2 could have interfered on the passive immunity curve to PPV.

It was expected that on second parturition, sows had higher levels of PPV antibodies and better reproductive performance than when were gilts, according to the improvement of immunological system (JOO & JOHNSON, 1977; PYE et al., 1990) however, this did not occur in totally. All females were revaccinated ten days after each farrowing, and increased the antibody level. However, 1.30% out of them that had PPV antibodies on first pregnancy, did not presented them during second pregnancy. Maybe a problem with vaccination procedure occurred or they had not a good individual immune response (DAMM et al., 2002; ORAVAINEN et al., 2005). Despite to mummified fetus, stillbirths, born alive and total born fetuses, other factors could be interfered on these values, like second parturition syndrome, swapped round classification between mummified and stillbirths, year season, vaccine response and other factors or agents which causes embryonic and fetal death (VAN DER LENDE & VAN RENS, 2003; BORGES et al., 2005).

Additionally, ELISA test showed to be as efficient as HI to detect PPV antibodies, in accordance with Oravainen et al. (2006) and is a good tool in estimating the herd PPV status. Despite being the “gold standard” technique to detect PPV antibodies, the HI procedure is time consuming and some variations on the procedure could have different results. The ELISA is a sensitive diagnosis and can be automatized (MENGELING et al., 1999). Because PPV is ubiquitous and almost all herds use PPV vaccine, the presence of antibodies in a single sample is otherwise meaningless and a herd antibodies profile should be carefully evaluated.

In summary, in this study, a PPV antibodies profile was described in piglets and gilts. Passive and active immunity acquired for PPV were evaluated, as well as the half-life of PPV antibodies. The passive immunity decreased earlier than described in literature and the half-life antibodies was a little longer than other studies. Based on that, the antibodies presented by gilts

before vaccination were due to infection. As demonstrated, around three month-age animals showed none PPV maternal antibodies, despite this if gilts' insemination is done before five to six months, PPV vaccination can be performed in advance, because there is no interference of passive antibodies. Most published studies are prior to the current use of PPV vaccine and PCV2 emerging, suggesting that these factors could interfere on PPV epidemiology.

Acknowledgments

This work was supported by grants from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/Brazil). We are also grateful to Dr. Jeffrey J. Zimmerman, Dr. Christa A. Irwin, Dr. Arlei Coldebella, Dr. Mari Lourdes Bernardi and Dr. Luis Gustavo Corbellini for the statistical analysis and Master Agropecuária for the partnership in this project.

References

ANTONIS, A.F.; BRUSCHKE, C.J.; RUEDA, P.; MARANGA, L.; CASAL, J.I.; VELA, C.; HILGERS, L.A.; BELT, P.B.; WEERDMEESTER, K.; CARRONDO, M.J.; LANGEVELD, J.P. A novel recombinant virus-like particle vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. **Vaccine**. v.24, n.26, p.5481-5490, 2006.

BOERSEMA, W.J.; VAN ROOIJ, E.M.; SCHOLTEN, W.J.; ZWART, R.J.; KIMMAN, T.G.; BIANCHI, A. Silent memory induction in maternal immune young animals. **The Veterinary Quarterly**. v.20, s.3, p.89-92, 1998.

BORGES, V.F.; BERNARDI, M.L.; BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Risk factors for stillbirth and foetal mummification in four Brazilian swine herds. **Preventive Veterinary Medicine**. v.70, n.3-4, p.165-176, 2005.

BROWN, H.; SPEER, V.C.; QUINN, L.Y.; HAYS, V.W.; CATRON, D.V. Studies on colostrum acquired immunity and active antibody production in baby pigs. **American Journal of Veterinary Research**. v.20, p.323-328, 1961.

BROWN, T.T.; WHITACRE, M.D.; ROBISON, O.W. Use of an inactivated vaccine for prevention of parvovirus-induced reproductive failure in gilts. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.190, n.2, p.179-181, 1987.

BRYAN, M. ZIMMERMAN, J.J.; BERRY, W.J. The use of half-lives and associated confidence intervals in biological research. **Veterinary Research Communications**. v.14, n.3, p.235-240, 1990.

BOURNE, F.J. & CURTIS, J. The transfer of immunoglobulins IgG, IgA and IgM from serum to colostrum and milk in the sow. **Immunology**. v.24, n.1, p.157-162, 1973.

BUTLER, J.E.; KLOBASA, F.; WERHAHN, E. The differential localization of IgA, IgM and IgG in the gut of suckled neonatal piglets. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.2, n.1, p.53-65, 1981.

CARTWRIGHT, S.F. & HUCK, R.A. Viruses isolated in association with herd infertility, abortions and stillbirths in pigs. **Veterinary Record**. v.81, p.196-197, 1967.

CHEN, H.Y.; LI, X.K.; CUI, B.A.; WEI, Z.Y.; LI, X.S.; WANG, Y.B.; ZHAO, L.; WANG, Z.Y. A TaqMan-based real-time polymerase chain reaction for the detection of porcine parvovirus. **Journal of Virological Methods**. v.156, n.1-2, p.84-88, 2009.

DAMM, B.I.; FRIGGENS, N.C.; NIELSEN, J.; INGVARTSEN, K.L.; PEDERSEN, L.J. Factors affecting the transfer of porcine antibodies from sow to piglets. **Journal of Veterinary Medicine, A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine**. v.49, n.9, p.487-495, 2002.

ELLIS, J.; CLARK, E.; HAINES, D.; WEST, K.; KRAKOWKA, S.; KENNEDY, S.; ALLAN, G.M. Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. **Veterinary Microbiology**. v.98, n.2, p.159-163, 2004.

FENATI, M.; ARMAROLI, E.; CORRAIN, R.; GUBERTI, V. Indirect estimation of porcine parvovirus maternal immunity decay in free-living wild boar (*Sus scrofa*) piglets by capture-recapture data. **The Veterinary Journal**. . v.180, n.2, p.262-264, 2009.

HORWITZ, M.S. Parvoviridae: The Viruses and Their Replication. In: FIELDS, B.N.; KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. **Fields Virology**. Philadelphia: Lippincott- Raven, 1996. 2587p.

JOHNSON, R.H.; DONALDSON-WOOD, C.; ALLENDER, U. Observations on the epidemiology of porcine parvovirus. **Australian Veterinary Journal**. v.52, n.2, p.80-84, 1976.

JOO, H.S. & JOHNSON, R.H. Serological response in pigs vaccinated with inactivated porcine parvovirus. **Australian Veterinarian Journal**. v.53, n.11, p.550-553, 1977.

JOO, H.S.; DONALDSON-WOOD, C.R.; JOHNSON, R.H. A standardized haemagglutination inhibition test for porcine parvovirus antibody. **Australian Veterinary Journal**. v.52, n.9, p.422-444, 1976.

KLOBASA, F.; WERHAHN, E.; BUTLER, J.E. Regulation of humoral immunity in the piglet by immunoglobulins of maternal origin. **Research in Veterinary Science**. v.31, n.2, p.195-206, 1981.

KLOBASA, F.; HABE, F.; WERHAHN, E.; BUTLER, J.E. The influence of age and breed on the concentrations of serum IgG, IgA and IgM in sows throughout the reproductive cycle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.10, n.4, p.355-366, 1985.

KRAKOWKA, S.; ELLIS, J.A.; MEEHAN, B.; KENNEDY, S.; McNEILLY, F.; ALLAN, G. Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by co-infection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. **Veterinary Pathology**. v.37, n.3, p.254-263, 2000.

LENGHAUS, C.; FORMAN, A.J.; HALE, C.J. Experimental infection of 35, 50 and 60 day old pig foetuses with porcine parvovirus. **Australian Veterinary Journal**. v.54, n.9, p.418, 1978.

LOBATO, Z.I.P.; REIS, R.; LEITE, M.C. Avaliação da resposta sorológica de suínos imunizados contra parvovirose suína com uma vacina inativada experimental. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.45, n.2, p.161-171, 1993.

LU, J.; ZHAO, J.; FANG, L.; HE, Q.; CAO, S.; CHEN, H. A slide latex agglutination test for the rapid detection of antibodies in serum against porcine parvovirus. **Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases and Veterinary Public Health**. v.53, n.2, p.59-61, 2006.

MADSEN, E.S.; MADSEN, K.G.; NIELSEN, J.; JENSEN, M.H.; LEI, J.C.; HAVE, P. Detection of antibodies against porcine parvovirus nonstructural protein NS1 may distinguish between vaccinated and infected pigs. **Veterinary Microbiology**. v.54, n.1, p.1-16, 1997.

MENGELING, W.L.; CUTLIP, R.C.; WILSON, R.A.; PARKS, J.B.; MARSHALL, R.F. Fetal mummification associated with porcine parvovirus infection. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.166, n.10, p.993-995, 1975.

MENGELING, W.L.; BROWN, T.T.; PAUL, P.S., GUTEKUNST, D.E. Efficacy of an inactivated virus vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. **American Journal of Veterinary Research**. v.40, n.2, p.204-207, 1979.

MENGELING, W.L. Porcine Parvovirus. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**. 8.ed. Iowa State University Press: Ames, 1999. Cap.8, p.119-124.

MENGELING, W.L. Porcine parvovirus: properties and prevalence of a strain isolated in the United States. **American Journal of Veterinary Research**. v.33, n.11, p.2239-2248, 1972.

MOLITOR, T.W.; ORAVEERAKUL, K.; ZHANG, Q.Q.; CHOI, C.S.; LUDEMANN, L.R. Polymerase chain reaction (PCR) amplification for the detection of porcine parvovirus. **Journal of Virological Methods**. v.32, n.2-3, p.201-211, 1991.

MULLER, T.; TEUFFERT, J.; STAUBACH, C; SELHORST, T.; DEPNER, K.R. Long-term studies on maternal immunity for Aujeszky's disease and classical swine fever in wild boar piglets. **Journal of Veterinary Medicine B.** v.52, n.10, p.432-436, 2005.

ORAVAINEN, J.; HAKALA, M.; RAUTIAINEN, E.; VEIJALAINEN, P.; HEINONEN, M.; TAST, A.; VIROLAINEN, J.V; PELTONIEMI, O.A.T. Parvovirus antibodies in vaccinated gilts in field conditions - results with HI and ELISA tests. **Reproduction in Domestic Animals.** v.41, n.1, p.91-93, 2006.

ORAVAINEN, J.; HEINONEN, M.; TAST, A; VIROLAINEN, J.; PELTONIEMI, O. High porcine parvovirus antibodies in sow herds: prevalence and associated factors. **Reproduction of Domestic Animals.** v.40, n.1, p.57-61, 2005.

ORAVEERAKUL, K.; CHOI, C.S.; MOLITOR, T.W. Restriction of porcine parvovirus replication in nonpermissive cells. **Journal of Virology.** v.66, n.2, p.715-722, 1992.

PARKE, C.R. and BURGESS, G.W. An economic assessment of porcine parvovirus vaccination. **Australian Veterinary Journal.** v.70, n.5, p.177-180, 1993.

PAUL, P.S. and MENGELING, W.L. Vaccination of swine with an inactivated porcine parvovirus vaccine in the presence of passive immunity. **Journal of American Veterinary Medical Association.** v.188, n.4, p.410-413, 1986.

PAUL, P.S.; MENGELING, W.L.; PIRTLE, E.C. Duration and biological half-life of passively acquired colostral antibodies to porcine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research.** v.43, n.8, p.1376-1379, 1982.

PAUL, P.S.; MENGELING, W.L.; BROWN, T.T. Effect of vaccinal and passive immunity on experimental infection of pigs with porcine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research.** v.41, n.9, p.1368-1371, 1980.

PYE, D.; BATES, J.; EDWARDS, S.J.; HOLLINGWORTH, J. Development of a vaccine preventing parvovirus-induced reproductive failure in pigs. **Australian Veterinary Journal**. v.67, n.5, p.179-182, 1990.

QING, L.; LV J.; LI, H.; TAN, Y.; HAO, H.; CHEN, Z.; ZHAO, J.; CHEN, H. The recombinant nonstructural polyprotein NS1 of porcine parvovirus (PPV) as diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated pigs. **Veterinary Research Communications**. v.30, n.2, p.175-190, 2006.

RANZ, A.I.; MANCLÚS, J.J.; DÍAZ-AROCA, E.; CASAL, J.I. Porcine parvovirus: DNA sequence and genome organization. **The Journal of General Virology**. v.70, n.10, p.2541-2553, 1989.

SALMON, H.; BERRI, M.; GERDTS, V.; MEURENS, F. Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. **Developmental and Comparative Immunology**. v.33, n.3, p.384-393, 2009.

SALMON, H. Immunity in the fetus and the newborn infant: a swine model. **Reproduction, Nutrition, Development**. v.24, n.2, p.197-206, 1984.

SAS 2005. SAS/STAT User's Guide, Release 6.12 SAS Institute INC, Cary, NC.

SEGALÉS, J.; ALLAN, G.M.; DOMINGO, M. Porcine circovirus diseases. **Animal Health Research Reviews**. v.6, n.2, p.119-142, 2005.

SENN, M.K.; YOON, K.J.; ZIMMERMAN, J.J.; THACKER, B.J. Decay of colostrum-derived antibodies to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in neonatal swine nursing immune dams. Disponível em <<http://www.extension.iastate.edu/Pages/ansci/swinereports/asl-1603.pdf>>. Acesso em 15/11/2010.

SOARES, R.M.; DURIGON, E.L.; BERSANO, J.G.; RICHTZENHAIN, L.J. Detection of porcine parvovirus DNA by the polymerase chain reaction assay using primers to the highly conserved nonstructural protein gene, NS-1. **Journal of Virological Methods**. v.78, n.1-2, p.191-198, 1999.

SONG, C.; ZHU, C.; ZHANG, C.; CUI, S. Detection of porcine parvovirus using a taqman-based real-time PCR with primers and probe designed for the NS1 gene. **Virology Journal**. v.7, n.1, p.353-356, 2010.

SORENSEN, K.J.; MADSEN, P.; LEI, J.C. Efficacy of an inactivated porcine parvovirus (PPV) vaccine under field conditions. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v.29, n.3-4, p.295-302, 1988.

VAN DER LENDE, T. & VAN RENS, B.T. Critical periods for foetal mortality in gilts identified by analyzing the length distribution of mummified foetuses and frequency of non-fresh stillborn piglets. **Animal Reproduction Science**. v.15, n.1-2, p.141-150, 2003.

WILHELM, S.; ZIMMERMANN, P.; SELBITZ, H.J.; TRUYEN, U. Real-time PCR protocol for the detection of porcine parvovirus in field samples. **Journal of Virological Methods**. v.134, n.1-2, p.257-260, 2006.

WILSON, M.R. Immunologic development of the neonatal pig. **Journal of Animal Science**. v.38, n.5, p.1018-1021, 1974.

WRATHALL, A.E.; WELLS, D.E.; CARTWRIGHT, S.F.; FRERICHS, G.N. An inactivated, oil emulsion vaccine for the prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. **Research in Veterinary Science**. v.36, n.2, p.136-143, 1984.

Table 1- Distribution of each sample collection, total number of animals and percentage of positive and negative on ELISA test for PPV.

SAMPLE	n	Percentage (n)	
		Negative	Positive
Gilt (A) - before PPV vaccine	127	14.17 (18)	85.83 (109)
Gilt (B) - 15 days after 2nd dose	118	0 (0)	100 (118)
Gilt (C) - at farrowing	99	7.07 (7)	92.93 (92)
Gilt (D) - during 2nd pregnancy	77	1.30 (1)	98.70 (76)
Gilt (E) - colostrum	99	0 (0)	100 (99)
Piglets (i) - before colostrum ingestion	276	98.91 (273)	1.09 (3)
Piglets (ii) - at 7 day-old	248	6.45 (16)	93.55 (232)
Piglets (iii) - at 21 day-old	218	10.09 (22)	89.91 (196)
Piglets (iv) - at 57 day-old	204	64.71 (132)	35.29 (72)
Piglets (v) - at 87 day-old	196	98.47 (193)	1.53 (3)
Piglets (vi) at 128 day-old	188	97.87 (184)	2.13 (4)

Table 2- Descriptive statistics for OD (ELISA test), mummified fetus (MM), stillbirths (ST), born alive (BA) and total born (TB), comparing 68 females in the first farrow (1) and second (2) farrow.

	Means±SD		Minimum and maximum	
	1	2	1	2
OD	1.25±0.49 ^a	1.49±0.42 ^b	0.17-2.22	0.28-2.08
MM	0.60±1.02 ^a	0.09±0.29 ^b	0-4	0-1
ST	0.46±0.87 ^a	0.25±0.58 ^a	0-4	0-3
BA	11.74±2.46 ^a	10.94±2.93 ^a	5-17	3-18
TB	12.79±2.93 ^a	11.28±3.10 ^b	5-21	3-19

a, b within rows indicate statistical difference ($P < 0,05$).

Figure 1- Decay of passive immunity in piglets. The black square (■) indicates the moment in days which each sample were collected (prior to initial colostrum intake, 7, 21, 57, 87 and 128 day-old), according to the positive percentage on ELISA test.

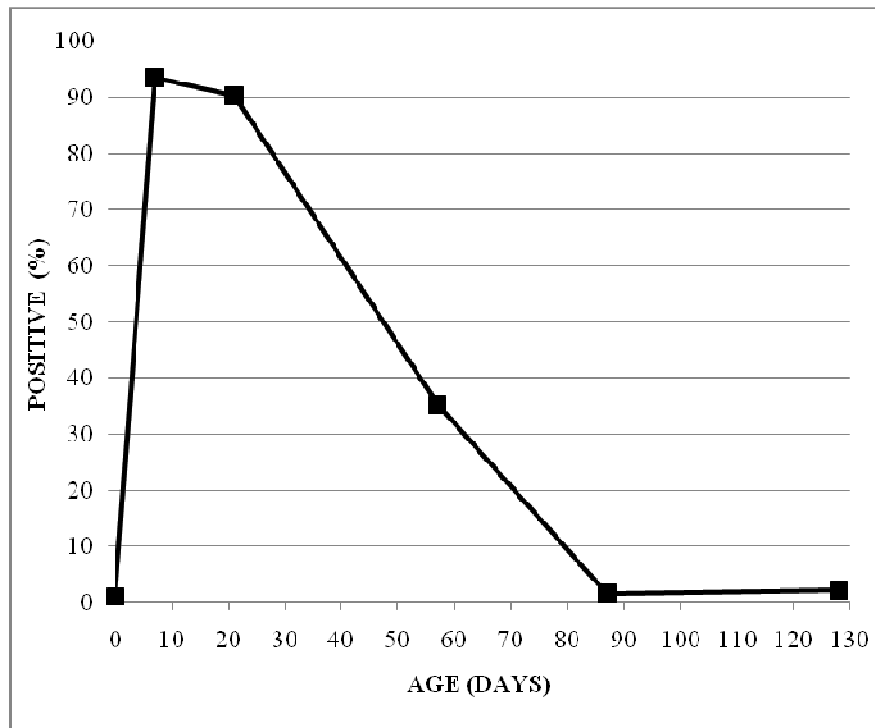
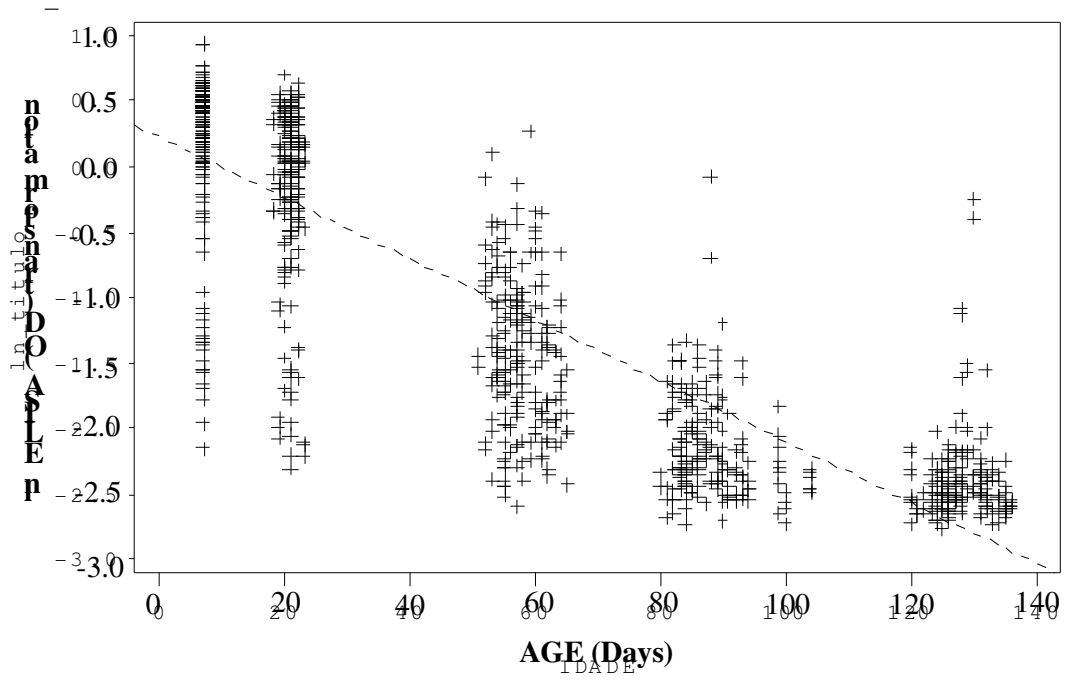


Figure 2- Half-life of piglets PPV antibodies analyzed between 0 to 128 day-old.



4.3 Artigo 3- “Caracterização do nível de anticorpos para parvovírus suíno associado ao perfil reprodutivo em fêmeas suínas de diferentes sistemas de reposição”

Artigo a ser publicado

Caracterização do nível de anticorpos para parvovírus suíno associado ao perfil reprodutivo em fêmeas suínas de diferentes sistemas de reposição

Danielle Gava¹; Mônica Santi¹; Mari Lourdes Bernardi¹, Cláudio Wageck Canal²; Fernando Pandolfo Bortolozzo¹; Ivo Wentz¹

Endereço completo:

1. Setor de Suínos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Av. Bento Gonçalves, 9090 Prédio 42.602 CEP 91540-000, Porto Alegre, Brasil).
2. Laboratório de Virologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Av. Bento Gonçalves, 9090 Prédio 42.602 CEP 91540-000, Porto Alegre, Brasil).

Autor para correspondência: (D. Gava): Telefone: 49 99927262. E-mail: daniellegava@gmail.com

Abstract

The objective of this study was to evaluate the porcine parvovirus antibodies profile in different gilts replacement systems, correlating with reproductive data. A hundred and fifth gilts were selected from three different gilts replacement systems: Fourth site - A (n=36), fourth site receiver herd - B (n=57) and a farm producing dam lines - C (n=57) after two doses of PPV vaccine. The PPV antibodies were measured by an ELISA test. There were a difference on antibody titers among the three herds ($P<0.05$). When we compared the reproductive data among herds, there were difference on total born and born alive, but this difference was not observed on the percentual of stillbirths and mummified ($P>0.05$). The correct gilt preparation, aiming the protection on mating time is fundamental to reach a great reproductive performance, independent of the replacement gilt system used.

Keywords: Porcine parvovirus, PPV, gilts production system, reproductive profile

Resumo

O trabalho objetivou avaliar o perfil de anticorpos para parvovirus suíno em diferentes sistemas de reposição, correlacionando com dados reprodutivos. Cento e cinquenta nulíparas foram selecionadas, de três sistemas de reposição diferentes: quarto sítio - A (n=36), granja receptora do

quarto sítio - B (n=57) e granja multiplicadora - C (n=57) após duas doses da vacina para PPV. Os anticorpos para PPV foram medidos utilizando um teste de ELISA. Houve diferença entre as três granjas com relação ao título de anticorpos ($P < 0,05$). Ao comparar os dados reprodutivos entre as granjas, houve diferença entre elas no número de nascidos totais e nascidos vivos, mas não foi observada diferença no percentual de natimortos e de mumificados ($P > 0,05$). A correta preparação da leitoa, objetivando a proteção no momento da cobertura é fundamental para alcançar bom desempenho reprodutivo, independente do sistema de reposição utilizado.

Palavras-chave: Parvovírus Suíno, PPV, sistema de produção de leitoa, perfil reprodutivo

Introdução

A parvovirose suína possui como agente etiológico o parvovírus suíno (PPV), que causa problemas reprodutivos em fêmeas suínas, com grande impacto, principalmente em nulíparas (TOO & LOVE, 1986; MENGELING, 1999). Apesar de, usualmente, a infecção ser subclínica em suínos adultos, sua importância deve-se à capacidade de infecção transplacentária, levando à morte dos embriões e fetos (MENGELING & CUTLIP, 1976; MENGELING, 1999). Em fêmeas pluríparas, com contato prévio com o agente, o efeito do vírus passa a ser reduzido ou nulo. Com a emergência do circovírus suíno tipo 2 (PCV2), o PPV tem novamente recebido destaque na suinocultura. O caráter imunossupressor do PCV2, e a comum afinidade por células em multiplicação explicam esta forte associação, que têm levado à um aumento nas perdas reprodutivas (SEGALÉS et al., 2005).

A introdução do PPV no rebanho pode ocorrer principalmente pela aquisição de reprodutores infectados. A transmissão pode ser através de contato oronasal com animais infectados ou a partir de suas secreções e excreções, tendo o sêmen, fetos e envoltórios fetais como importantes fontes de disseminação (GRADIL et al., 1990). A ampla distribuição do PPV também levanta a possibilidade de alguns suínos serem persistentemente infectados e excretarem o vírus periodicamente (JOHNSON et al., 1976).

Vários sistemas de produção de leitoas têm sido propostos e utilizados, como granja multiplicadora (composta de avós e bisavós, produz a leitoa para os demais sítios e também para a reposição interna), quinto sítio (a leitoa tem o primeiro parto neste sistema e sai para o produtor já prenha, na segunda gestação), quarto sítio (a leitoa sai para o produtor prenha, na primeira gestação) e reposição interna (a leitoa é preparada na própria granja e permanece no plantel). Teoricamente, espera-se menor desafio e melhores índices reprodutivos quando há um melhor cuidado e

preparação com a fêmea (FOXGROFT et al., 2004; WENTZ et al., 2007; BRANDT, 2008). Todavia, não existem estudos comparando o status sanitário com o perfil reprodutivo nos diferentes sistemas de reposição.

Atualmente, no Brasil, utilizam-se vacinas inativadas para PPV na imunização das fêmeas antes da cobertura, entretanto, diferentes títulos de anticorpos são observados (LOBATO et al., 1993). Após a implementação da vacinação como prática de rotina na suinocultura intensiva e emergência do PCV2, nenhum estudo mais amplo e comparativo com relação à circulação do PPV no plantel de leitões foi realizado. O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil de anticorpos para PPV em soro de nulíparas em diferentes sistemas de reposição, correlacionando com o número de leitões nascidos, natimortos e mumificados.

Material e Métodos

Amostras

Cento e cinquenta nulíparas foram selecionadas pelo método de amostragem aleatória simples, em três granjas com sistemas de reposição diferentes: quarto sítio - A (n=36), granja receptora do quarto sítio - B (n=57) e granja multiplicadora - C (n=57). As coletas de sangue abrangeram nulíparas que possuíam duas doses da vacina para PPV, e dependeram da disponibilidade destas categorias em cada granja.

O tamanho da amostra para população total, teoricamente infinita, foi determinado de acordo com Thrusfield, (2004), a partir de 5% de precisão e 95% de nível de confiança, estimando uma prevalência de 15%, baseada em estudos prévios realizados no Brasil (STRECK et al., 2011a).

Teste de ELISA

O soro, separado após centrifugação, foi mantido a -20°C até a realização do teste. Anticorpos para PPV foram mensurados utilizando um teste de ELISA indireto (Ingezim PPV 1.1.PPV.K.1[®], Ingenasa, Espanha). A razão S/P foi calculada e o ponto de corte foi fornecido pelo fabricante: ≤ 0.300 negativo and > 0.300 positivo.

Análise de parâmetros reprodutivos

Procedeu-se a avaliação de alguns parâmetros reprodutivos (nascidos totais - NT, nascidos vivos - NV, natimortos - NM e mumificados - MM). A análise reprodutiva das fêmeas das granjas

A e B foi realizada a partir do banco de dados obtidos no programa de gerenciamento das granjas, e, que no caso da granja A totalizou oito integrados diferentes. Os dados na granja C foram obtidos na granja, pelo acompanhamento direto dos partos.

Análise estatística

Foi realizada análise descritiva dos dados, com foco para média, desvio padrão, máxima, mínima e percentuais (procedimento FREQ). Os parâmetros reprodutivos das granjas foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis e o percentual de natimortos e mumificados foram submetidos à análise não paramétrica (PROC NPAR1 WAY) com nível de significância de 5% (SAS, 2005). As amostras de soro das diferentes granjas foram avaliadas pelo teste de ELISA (classificadas como negativas ou positivas) e o valor da densidade ótica foi analisado pelo teste exato de Fisher (SAS, 2005).

Resultados

Os resultados estão descritos na Tabela 1 e 2. Das 150 nulíparas inicialmente avaliadas pelo teste de ELISA nos diferentes sistemas de reposição, 127 fêmeas pariram, sendo 27 da granja A, 43 da granja B e 57 fêmeas da granja C.

Ao avaliar o perfil de anticorpos para PPV após as duas doses de vacina, 75%, 75,55% e 100% foram positivas, na granja, A, B e C respectivamente. Houve diferença entre as três granjas com relação ao título de anticorpos (Tabela 1).

Ao comparar os dados reprodutivos entre as granjas, houve diferença entre elas no número de nascidos totais e nascidos vivos, mas não foi observada diferença no percentual de natimortos nem de mumificados ($P < 0,05$) (Tabela 2).

Discussão

O isolamento do PPV e associação à falhas reprodutivas foram descritos primeiramente em 1967 (CARTWRIGHT & HUCK, 1967). Após, o vírus foi isolado em conceptos suínos em diversos países. Atualmente, a infecção pelo PPV está amplamente distribuída na população suína mundial, tanto doméstica quanto selvagem, sendo raras as granjas livres do vírus (MENGELING, 1972; RÓIC et al., 2005; RUIZ-FONS et al., 2006). Todos os três sistemas diferentes de reposição apresentaram mais de 75% das fêmeas avaliadas com anticorpos para PPV após a segunda

vacinação, contudo não sendo possível diferenciar se estes eram de origem passiva, ativa ou devidos à infecção. Apesar de descrito que os anticorpos passivos podem permanecer de três até sete meses ou mais (JOHNSON et al., 1976; PAUL et al., 1982), outro estudo desenvolvido em paralelo demonstrou que aos três meses de idade os animais não apresentam mais anticorpos colostrais (GAVA et al., dados não publicados). No Brasil, estudos sorológicos em suínos provenientes de granjas comerciais indicaram que o vírus já está estabelecido no País há pelo menos duas décadas, causando problemas reprodutivos (MARTINS et al., 1984; GOUVÊIA et al., 1984). Outros trabalhos relataram que a soroprevalência do PPV em granjas comerciais é superior a 80%, demonstrando que o vírus circula no plantel de suínos brasileiro (BERSANO et al., 1993; RODRIGUEZ et al., 2003).

Foi observada diferença no título pós vacinação nos três sistemas de reposição. De acordo com o protocolo vacinal recomendado, duas doses são necessárias para estimular a imunidade ativa (MENGELING et al., 1979; BROWN et al., 1987; MENGELING, 1999). Entretanto, vários fatores podem interferir no sucesso da vacinação (ORAVAINEN et al., 2005). A granja A e B tiveram em torno de 25% das fêmeas que não alcançaram títulos de anticorpos satisfatórios. De acordo com Oravainen et al. (2005) o tamanho da granja, a ordem de parto, o modo de aplicação e conservação da vacina influenciam amplamente na resposta vacinal. Deve-se garantir que 100% do plantel foi imunizado, caso contrário as fêmeas não imunes propiciam a manutenção viral, além de poderem apresentar transtornos reprodutivos como retorno ao estro, mumificação fetal, natimortos e leitegadas com tamanho reduzido (MENGELING & CUTLIP, 1976; MENGELING, 1999).

Além disto, Zeeuw et al. (2007), ao verificarem a atividade de neutralização gerada por cepas vacinais, observaram que as cepas vacinais não conseguiram obter completa capacidade neutralizante frente a novas cepas circulantes na Europa. As cepas vacinais do referido estudo são utilizadas há mais de 30 anos, podendo não possuir mais completa atividade protetora contra as novas variantes antigênicas. Streck et al. (2011b), avaliaram isolados recentes de PPV circulantes na América do Sul e Europa e também encontraram mudanças significativas no capsídeo destas cepas, o que leva à questionamentos quanto à real capacidade protetora das vacinas comerciais disponíveis. Idealmente, deveria ser avaliado o perfil sorológico do rebanho, com o objetivo de identificar se as nulíparas estão sendo imunizadas no período correto, e também se existe necessidade de revacinação das fêmeas mais velhas, evitando gastos desnecessários. Os estudos de Zeeuw et al. (2007) e Streck et al. (2011b) levam também à uma outra abordagem em relação ao papel biológico da presença do PPV nos rebanhos. A mudança do perfil viral pode ter levado à proteção parcial por

parte da vacinação, ou seja, a circulação do PPV nos rebanhos pode ser vista de um modo geral como benéfica em termos protetivos.

O perfil reprodutivo das fêmeas foi analisado nas três granjas (Tabela 2), e foi diferente entre elas ($P < 0,05$). A granja A apresentou menor número de NT e NV, seguido pela granja B e C. Contudo, não houve diferença no percentual de natimortos nem de mumificados. Esta diferença pode ser atribuída principalmente ao acompanhamento dos partos e avaliação minuciosa das placentas, já que isto foi realizado somente na granja C e não nas demais, devido à logística de distribuição das fêmeas. Fetos mumificados muito pequenos são de difícil identificação (VAN DER LENDE & VAN RENS, 2003), e muitas vezes, metas são atribuídas frente ao percentual de MM e NM, o que pode levar à incorreta classificação e omissão de dados. Os erros de registro no número de leitões nascidos tende à subestimar o tamanho da leitegada e podem fazer com que a interpretação dos resultados de desempenho do rebanho seja equivocada (BLACKWELL, 1987; LUCIA Jr et al., 1999; SCHNEIDER et al., 2004).

Apesar do exposto, os índices reprodutivos encontram-se dentro do preconizado na suinocultura intensiva, de 1,5% podendo chegar até 5,7% para MM e 1,8 a 9,0% para NM. Esta alta variação pode ser influenciada pela forma de registro, da pressão de assistência ao parto, pelo treinamento dos funcionários e pela existência de metas a serem atingidas (BLACKWELL, 1987; SCHNEIDER et al., 2004; BORGES et al., 2005). A granja multiplicadora apresentou maior número de NT. Mesmo o quarto sítio possuindo como grande vantagem a entrega de fêmea já coberta, anulando as perdas ocorridas no primeiro mês de gestação, sabe-se que o restante do manejo gestacional, bem como o acompanhamento dos partos influenciam no número de NV (BORGES et al., 2005; BRANDT, 2008). Neste caso, cada um dos oito integrados que receberam as fêmeas possuíam diferenças no manejo que podem ter interferido nos índices reprodutivos avaliados. No mínimo dois terços da variação no tamanho das leitegadas são devidos à mortalidade pré-natal. Dentre a mortalidade pré-natal, as perdas embrionárias afetam 20-30% dos oócitos liberados, e são responsáveis pela maior parte das perdas gestacionais. No entanto, a mortalidade fetal assume proporções importantes de 5-15%, frente ao potencial de oócitos fecundados (POPE & FIRST, 1985; VAN DER LENDE & VAN RENS, 2003). Entre os fatores que podem influenciar as perdas fetais e a natimortalidade destacam-se: doenças infecciosas, tamanho da leitegada, duração do parto, partos distócicos, atendimento ao parto, estresse pelo calor, micotoxinas, deficiências nutricionais, dentre outros (LEENHOUWERS et al., 1999; TANTASUPARUK et al., 2000; LUCIA Jr, et al., 2002; SCHNEIDER et al., 2004; BORGES et al., 2005).

Ao comparar os três sistemas de reposição, não podemos deixar de mencionar a presença do macho bem como a relação de fêmeas mais jovens com fêmeas mais velhas. Tantos machos como fêmeas de ordem de parto maior já passaram por mais desafios e vacinações. A presença concomitante destas categorias no plantel também pode ser responsável pela circulação do PPV no rebanho (STRECK et al., 2011a).

Apesar de existir diferença no título de anticorpos e nos índices reprodutivos nos diferentes sistemas de reposição, fica difícil determinar o melhor modo de aquisição de leitões. Não existe uma regra a ser seguida para a escolha do sistema de reposição mais conveniente, pois os aspectos envolvidos são complexos e a viabilidade varia de acordo com o perfil de cada unidade, incluindo fatores econômicos, genéticos e especialmente sanitários. O fundamental é que as nulíparas sejam corretamente adaptadas e manejadas, que o processo de vacinação seja ideal com correta aplicação e conservação da vacina, e que associado haja boa limpeza e desinfecção das instalações, somado à biossegurança. Garantindo a correta preparação da futura matriz e bom manejo gestacional, o retorno será em maior número de leitões nascidos vivos, influenciando quase que diretamente no número de desmados por fêmea por ano.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/Brazil) pelo suporte financeiro. Às empresas Master e Perdigão que permitiram a realização do experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERSANO, J.G.; SCHOTTEN, M.H.S.; KROEFF, S.S.E.; BASTOS, G.M. Dados preliminares sobre a ocorrência de anticorpos para o parvovírus suíno no Estado de São Paulo. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 6., 1993. **Anais...** São Paulo, SP, p.17, 1993.

BLACKWELL, T.E. Predicting stillbirth problems. **Swine production management. Compendium of Food Animal.** v.9, p.371-374, 1987.

BORGES, V.F.; BERNARDI, M.L.; BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Risk factors for stillbirth and foetal mummification in four Brazilian swine herds. **Preventive Veterinary Medicine.** v.70, n.3-4, p.165–176, 2005.

BRANDT, G. Quarto sítio seria a melhor solução para incorporação de matrizes de reposição em um rebanho suíno? **Acta Scientiae Veterinaria**. v.36, s.1, p.137-142, 2008.

BROWN, T.T.; WHITACRE, M.D.; ROBISON, O.W. Use of an inactivated vaccine for prevention of parvovirus-induced reproductive failure in gilts. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.190, n.2, p.179-181, 1987.

BROWN, T.T. Laboratory evaluation of selected disinfectants as virucidal agents against porcine parvovirus, pseudorabies virus, and transmissible gastroenteritis virus. **American Journal of Veterinary Research**. v.42, n.6, p.1033-1036, 1981.

CARTWRIGHT, S.F. & HUCK, R.A. Viruses isolated in association with herd infertility, abortions and stillbirths in pigs. **Veterinary Record**. v.81, p.196-197, 1967.

FOXCROFT, G.; PATTERSON, J.; BELTRANENA, E.; PETTITT, M. Identifying the true value of effective replacement gilt management. In: PROCEEDINGS OF THE MANITOBA SWINE SEMINAR, 2004. **Proceedings...** WINNIPEG, MB, p.35-51, 2004.

GOUVÊIA, A.M.G.; GOMEZ, M.C.; REIS, R. Alterações reprodutivas e prevalência de anticorpos inibidores de hemaglutinação para o parvovírus suíno no estado de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.4, n.1, p.17-22, 1984.

GRADIL, C.; MOLITOR, T.; HARDING, M.; CRABO, B. Excretion of porcine parvovirus through the genital tract of boars. **American Journal of Veterinary Research**. v.51, n.3, p.359-362, 1990.

HORWITZ, M.S. Parvoviridae: The Viruses and Their Replication. In: FIELDS, B.N.; KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. **Fields Virology**. Philadelphia: Lippincott- Raven, 1996. 2587p.

JOHNSON, R.H.; DONALDSON-WOOD, C.; ALLENDER, U. Observations on the epidemiology of porcine parvovirus. **Australian Veterinary Journal**. v.52, n.2, p.80-84, 1976

LEENHOUWERS, J.I.; VAN DER LENDE, T.; KNOL, E.F. Analysis of stillbirth in different lines of pig. **Livestock Production Science**. v.57, p.243-253, 1999.

LOBATO, Z.I.P.; REIS, R.; LEITE, M.C. Avaliação da resposta sorológica de suínos imunizados contra parvovirose suína com uma vacina inativada experimental. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.45, n.2, p.161-171, 1993.

LUCIA JR, T.; CORREA, M.N.; DESCHAMPS, J.C.; BIANCHI, I.; DONIN, M.A.; MACHADO, A.C.; MEINCKE, W. Risk factors for stillbirth in two swine farms in the south of Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**. v.53, p.285-292, 2002.

LUCIA JR, T.; DESCHAMPS, J.C.; CORRÊA, M.N. Estratégias de gerenciamento de informação aplicadas à suinocultura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.23, n.2, p.132-140, 1999.

MARTINS, R.M.; ROEHE, P.M.; GUIMARÃES, L.J.; RANGEL, E.V. Sorologia de parvovírus suíno em granjas do estado de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. In: V CONGRESSO NACIONAL DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 1984. **Anais...** Curitiba, PR. p.39, 1984.

MENGELING, W.L. & CUTLIP, R.C. Reproductive disease experimentally induced by exposing pregnant gilts to porcine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research**. v.37, n.12, p.1393-1400, 1976.

MENGELING, W.L.; BROWN, T.T.; PAUL, P.S., GUTEKUNST, D.E. Efficacy of an inactivated virus vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. **American Journal of Veterinary Research**. v.40, n.2, p.204-207, 1979

MENGELING, W.L. Porcine parvovirus: properties and prevalence of a strain isolated in the United States. **American Journal of Veterinary Research**. v.33, n.11, p.2239-2248, 1972.

MENGELING, W.L. Porcine Parvovirus. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**. 8.ed. Iowa State University Press: Ames, 1999. Cap.8, p.119-124.

ORAVAINEN, J.; HEINONEN, M.; TAST, A; VIROLAINEN, J.; PELTONIEMI, O. High porcine parvovirus antibodies in sow herds: prevalence and associated factors. **Reproduction of Domestic Animals**. v.40, n.1, p.57-61, 2005

PAUL, P.S.; MENGELING, W.L.; PIRTLE, E.C. Duration and biological half-life of passively acquired colostral antibodies to porcine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research**. v.43, n.8, p.1376-1379, 1982.

POPE, W.F. & FIRST, N.L. Factors affecting the survival of pig embryos. **Theriogenology**. v.23, p.91-105, 1985.

RODRIGUEZ, C.A.R.; HOMEM, V.S.F.; HEINEMANN, M.B.; FERREIRA NETO, J.S.; RICHTZENHAIN, L.J.; SOARES, R.M. Soroprevalência de anticorpos anti-parvovírus suíno em suínos do município de Uruará, estado do Pará. **Arquivo do Instituto Biológico**. v.70, n.4, p.501-503, 2003.

ROIC, B.; CAJAVEC, S.; TONCIC, J.; MADIC, J.; LIPEJ, Z.; JEMERSIC, L.; LOJKIC, M.; MIHALJEVIC, Z.; CAC, Z.; SOSTARIC, B. Prevalence of antibodies to porcine parvovirus in wild boars (*Sus scrofa*) in Croatia. **Journal of Wildlife Diseases**. v.41, n.4, p.796-799, 2005.

RUIZ-FONS, F.; VICENTE, J.; VIDAL, D.; HÖFLE, U.; VILLANÚA, D.; GAUSS, C.; SEGALÉS, J.; ALMERÍA, S.; MONTORO, V.; GORTÁZAR, C. Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: the effect on wild boar female reproductive performance. **Theriogenology**. v.65, n.4, p.731-743, 2006.

SAS 2005. SAS/STAT User's Guide, Release 6.12 SAS Institute INC, Cary, NC.

SCHNEIDER, L.G., BORTOLOZZO, F. P., WENTZ, Ivo, BORCHARDT NETO, G. Erros de anotações na elaboração de índices de produção em granjas industriais de suínos no Sul do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.56, n.1, p.81-85, 2004.

SEGALÉS, J.; ALLAN, G.M.; DOMINGO, M. Porcine circovirus diseases. **Animal Health Research Reviews**. v.6, n.2, p.119-142, 2005.

STRECK, A.F.; GAVA, D.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R. BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I.; CANAL, C.W. Presence of porcine parvovirus in sera from pigs is independent of antibody titers. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**. v.124, n.5-6, p.242-246, 2011a.

STRECK, A.F.; BONATTO, S.L.; HOMEIER, T.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R. GAVA, D.; CANAL, C.W., TRUYEN, U. High rate of viral evolution in the capsid protein of porcine parvovirus. **Journal of General Virology**. v.92, 2011b.

TANTASUPARUK, W., LUNDEHEIM, N., DALIN, A., KUNAVONGKRIT, A., EINARSSON, S. Reproductive performance of purebred Landrace and Yorkshire sows in Thailand with special reference to seasonal influence and parity number. **Theriogenology**. v.54, p.481-496, 2000.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**. 2ªed. Ed. Rocca – São Paulo. 2004. 556p

TOO, H.L. & LOVE, R.J. Some epidemiological features and effects on reproductive performance of endemic porcine parvovirus infection. **Australian Veterinary Journal**. v.63, n.2, p.50-53, 1986.

VAN DER LENDE, T. & VAN RENS, B.T. Critical periods for foetal mortality in gilts identified by analyzing the length distribution of mummified foetuses and frequency of non-fresh stillborn piglets. **Animal Reproduction Science**. v.15, n.1-2, p.141-150, 2003.

WENTZ, I.; PANZARDI, A.; MELLAGI, A.P.G; BORTOLOZZO, F.P. Cuidados com a leitoa entre a entrada na granja e a cobertura: procedimentos com vistas à produtividade e longevidade da matriz. **Acta Scientiae Veterinaria**. v.35, s.1, p.17-27, 2007.

Tabela 1- Média seguido pelo desvio padrão (DP) da densidade ótica apresentada no teste de ELISA nos três diferentes sistemas de reposição.

GRANJA	Média±DP
A- Quarto sítio (n=36)	0,72 ± 0,08 ^a
B- Receptora do quarto sítio (n=57)	0,99 ± 0,07 ^b
C- Multiplicadora (n=57)	1,68 ± 0,07 ^c

a, b: Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05).

Tabela 2- Distribuição dos parâmetros reprodutivos (NT, NV, NM e MM) de acordo com o sistema de reposição.

GRANJA	PARÂMETRO REPRODUTIVO	MÉDIA±DESVIO PADRÃO	MÍNIMO-MEDIANA-MÁXIMO
A- Quarto sítio	NT	10,1±0,75 ^b	-
	NV	9,7±0,80 ^b	-
	% NM	4,9	0,0-0,0-50,0
	% MM	2,6	0,0-0,0-50,0
B- Receptora do quarto sítio	NT	11,6±0,33 ^{ab}	-
	NV	10,7±0,32 ^{ab}	-
	% NM	5,2	0,0-0,0-29,4
	% MM	2,1	0,0-0,0-33,3
C- Multiplicadora	NT	12,6±0,45 ^a	-
	NV	11,8±0,40 ^a	-
	% NM	3,6	0,0-0,0-28,6
	% MM	2,8	0,0-0,0-15,4

Letras diferentes na mesma coluna conforme o parâmetro reprodutivo diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Não houve diferença no percentual de natimortos e de mumificados ($P > 0,05$).

4. DISCUSSÃO GERAL

No processo produtivo da suinocultura, os aspectos relacionados à eficiência reprodutiva são fundamentais, pois determinam o desempenho econômico da cadeia, traduzido pelo número de leitões desmamados por fêmea por ano. Índices associados à eficiência produtiva, como a genética, nutrição, sanidade, ambiência e aprimoramento das técnicas de manejo, merecem destaque. É necessário também que existam metodologias de diagnóstico eficientes para caracterizar o perfil de um rebanho frente à um determinado agente. Todos estes itens andam em conjunto, contudo, os aspectos sanitários têm grande importância, pois além de interferirem nos resultados internos de cada granja, podem funcionar como grande entrave ou facilitador de portas para exportação.

O primeiro estudo teve como objetivo determinar a resposta de anticorpos para o PPV em leitões após a vacinação para PPV, avaliar a transferência de imunidade passiva e estimar a curva de declínio e meia-vida dos anticorpos colostrais na leitegada. Foi avaliado também um teste de ELISA comercial e comparado frente ao teste de HI, que é considerado o padrão ouro para PPV. O segundo estudo avaliou o perfil de anticorpos para PPV em leitões de diferentes sistemas de reposição, correlacionando com dados reprodutivos.

Nos dois estudos, algumas fêmeas apresentaram anticorpos para PPV antes da vacinação. Uma dose de vacina somente não foi suficiente para levar à resposta imune, contudo após duas doses as fêmeas apresentaram anticorpos detectáveis pelo teste de ELISA. O grupo que mais sofre os prejuízos são as leitões, que não apresentam imunidade frente ao PPV (TOO e LOVE, 1986; MENGELING, 1999). A medida que a ordem de parto aumenta, aumenta a chance de contato com o vírus e consequentemente a resposta imune, diminuindo os problemas reprodutivos associados (JOHNSON et al., 1976; CUTLER et al., 1982). Contudo, neste estudo, mesmo fêmeas de segunda ordem de parto tiveram queda no perfil de anticorpos. Assim é necessário que as fêmeas sejam revacinadas a cada parição para manter os anticorpos circulantes, evitando perdas reprodutivas causadas pelo PPV (JOO e JOHNSON, 1977; PYE et al., 1990).

Apenas vacinas inativadas estão disponíveis no Brasil para o controle da infecção pelo PPV. Apesar do PPV ser um vírus DNA, com menores taxas de mutação, foi verificado que cepas vacinais não apresentavam completa capacidade de neutralização frente à cepas de vírus isolados na Europa (ZEEUW et al., 2007). Mutações no capsídeo viral também foram detectadas em cepas circulantes na América do Sul e Europa (STRECK et al., 2011b). Isso leva à repensar a eficiência da vacina utilizada, que é a mesma há aproximadamente 30 anos. Falhas na vacinação podem

ocorrer, mas são de difícil identificação devido à amplitude de fatores envolvidos, que vão desde à fabricação, conservação e aplicação da vacina (ORAVAINEN et al., 2005).

O manejo utilizado, especialmente em relação às condições de isolamento e o nível de higiene, podem ser responsáveis pela maior ou menor disseminação viral na granja. O principal fator responsável pela introdução do vírus no plantel é a aquisição de reprodutores, devido à isto deve-se ter especial atenção com a origem das fêmeas de reposição bem como a origem do sêmen (JOHNSON et al., 1976; CUTLER et al., 1982). Ao avaliarmos distintos sistemas de reposição de leitões, diferenças no perfil de anticorpos e de índices reprodutivos foram encontrados. Contudo, o ponto mais importante não é determinar qual o melhor sistema de reposição, e sim garantir a imunidade da fêmea no momento da cobertura, a fim de evitar os transtornos reprodutivos como retorno ao estro, mumificação fetal, natimortalidade e leitegada de tamanho reduzido (MENGELING e CUTLIP, 1976; MENGELING, 1999).

Foi verificado forte correlação dos níveis de anticorpos no soro e no colostro da fêmea com os anticorpos no soro dos leitões. Estes achados corroboram com os de outros autores (PAUL et al., 1982; DAMM et al., 2002). Como já foi mencionado, o objetivo da vacinação é a proteção da matriz, contudo a leitegada adquire anticorpos, que podem influenciar na imunidade ativa. Diferentemente do apresentado na literatura (JOHNSON et al., 1976; PAUL et al., 1982), a curva de anticorpos para PPV começa a cair em torno dos 21 dias de idade, conforme esperado, mas aos três meses de idade os animais não apresentam mais anticorpos. A meia-vida calculada para os anticorpos para PPV foi de 29,80 dias. Como a genética e nutrição têm evoluído em velocidade diferente da sanidade em alguns pontos, pode ser que o momento da cobertura possa ser antecipado para maximizar a vida reprodutiva da matriz. Assim sendo, como aos três meses de idade já não existem mais anticorpos de origem materna para interferir na vacinação, se houver necessidade de cobertura precoce, a vacinação para PPV poderá ser realizada sem problemas.

O teste de ELISA apresentou boa correlação com o teste HI. Devido a automatização, rapidez e praticidade de leitura, o teste de ELISA possui qualidades interessantes para ser utilizado como metodologia de diagnóstico de rotina nos laboratórios (ORAVAINEN et al., 2006; MENGELING et al., 1999).

Este é o primeiro estudo realizado no Brasil após o uso comercial de vacinas, bem como após a emergência do PCV2. Os poucos estudos existentes envolvendo o perfil de anticorpos para PPV são na maioria da década de 70, e não existe nenhum dado comparando o perfil sorológico

para PPV em diferentes sistemas de reposição. Todos os resultados obtidos vem ao encontro da manutenção da sanidade dentro do rebanho, auxiliando no controle e prevenção da parvovirose.

5. CONCLUSÕES

1. Há boa correlação entre o teste de ELISA e o teste de HI para PPV. Desta forma, devido à praticidade e rapidez, o teste ELISA mostra-se boa ferramenta na detecção de anticorpos para PPV, auxiliando no diagnóstico e controle da parvovirose no rebanho.
2. Anticorpos para PPV foram detectados em leitoas antes e após vacinação. Contudo, em outra granja, as leitoas não apresentaram anticorpos antes da vacinação. Estas observações caracterizam a ampla distribuição do vírus, bem como a importância de medidas de manejo e biossegurança.
3. A revacinação para PPV é de extrema importância, pois mantém o nível de anticorpos protetivos no rebanho, conforme observado nas fêmeas de segundo parto..
4. Fêmeas vacinadas para PPV transferem imunidade para a leitegada pelo colostro. A quantidade de anticorpos no soro das fêmeas é diretamente proporcional à quantidade de anticorpos no colostro, que por sua vez também é diretamente proporcional aos níveis de anticorpos da leitegada.
5. A imunidade passiva começa a declinar aos 21 dias de idade, e em torno dos três meses de idade os anticorpos para PPV não são mais detectados, diferentemente de estudos disponíveis até então.
6. A meia-vida de anticorpos para PPV é de 29,80 dias.
7. Baseado nestas informações, caso haja necessidade de antecipação da vacinação pré-cobertura, a mesma pode ser realizada sem problemas, devido à ausência de interferência de anticorpos maternos.
8. Embora haja diferença do perfil de anticorpos e parâmetros reprodutivos entre os distintos sistemas de reposição, deve-se garantir correta imunização das leitoas. Sabe-se que vários fatores atuam e influenciam o desempenho reprodutivo da matriz, contudo é essencial que a leitoa seja corretamente preparada, independente do manejo utilizado, a fim de maximizar a produtividade.

6. REFERÊNCIAS

- ABIPECS - Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. Disponível em <<http://www.abipecs.org.br>>. Acesso em 15/11/2010.
- AGROCERES PIC. **Guia de Manejo de Fêmeas**. 2ªed. 2008. 31p.
- AGROCERES PIC – PIG CHAMP. **PigCHAMP divulga resultado da Comparação de Dados 2009/2010**. 2010. Disponível em: <<http://www.agrocerepic.com.br>>. Acesso em 15/11/2010.
- ANTONIS, A.F.; BRUSCHKE, C.J.; RUEDA, P.; MARANGA, L.; CASAL, J.I.; VELA, C.; HILGERS, L.A.; BELT, P.B.; WEERDMEESTER, K.; CARRONDO, M.J.; LANGEVELD, J.P. A novel recombinant virus-like particle vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. **Vaccine**. v.24, n.26, p.5481-5490, 2006.
- ANTUNES, R.C. Planejando a reposição de reprodutores (macho e fêmea) e impacto sobre a eficiência reprodutiva da granja. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.31, n.1, p.41-46, 2007.
- AUMAITRE, A. e SEVE, B. Nutritional importance of colostrum in piglet. **Annals of Veterinary Research**. v.9, n.2, p.181-192, 1978.
- BAILEY, M.; HAVERSON, K.; INMAM, C.; HARRIS, C.; JONES, P.; CORFIELD, G.; MILLER, B.; STOKES, C. The influence of environment on development of the mucosal immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v.108, n.1-2, p.189-198, 2005.
- BARCELLOS, D.E.S.N.; ALMEIDA, M.N.; LIPPKE, R.T. Adaptação e quarentena de matrizes suínas: conceitos tradicionais e o que está vindo por aí! **Acta Scientiae Veterinaria**. v.35, s.1, p.9-15, 2007.
- BARCELLOS, D.E.S.N.; MORÉS, T.J.; SANTI, M.; GHELLER, N.B. Avanços em programas de biossegurança para a suinocultura. **Acta Scientiae Veterinaria**. v.36, s.1, p.33-46, 2008.
- BARLOW, A. A guide to the investigation of porcine abortion/stillbirth. **In Practice**. v.20, n.10, p.559-564, 1998.
- BERSANO, J.G.; SCHOTTEN, M.H.S.; KROEFF, S.S.E.; BASTOS, G.M. Dados preliminares sobre a ocorrência de anticorpos para o parvovírus suíno no Estado de São Paulo. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 6., 1993. **Anais...** São Paulo, SP, p.17, 1993.
- BLOMSTRÖM, A.; BELÁK, S.; FOSSUM, C.; McKILLEN, J.; ALLAN, G.; WALLGREN, P.; BERG, M. Detection of a novel porcine boca-like virus in the background of porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome. **Virus Research**. v.146, n.1-2, p.125-129, 2009.
- BOERSEMA, W.J.; VAN ROOIJ, E.M.; SCHOLTEN, W.J.; ZWART, R.J.; KIMMAN, T.G.; BIANCHI, A. Silent memory induction in maternal immune young animals. **The Veterinary Quarterly**. v.20, s.3, p.89-92, 1998.

- BORTOLOZZO, F.P. e WENTZ, I. **Suinocultura em Ação 3: A Fêmea de Reposição**. Porto Alegre: Pallotti. 2006. 127p.
- BOURNE, F.J. e CURTIS, J. The transfer of immunoglobulins IgG, IgA and IgM from serum to colostrum and milk in the sow. **Immunology**. v.24, n.1, p.157-162, 1973.
- BOURNE, F.J. Humoral immunity in the pig. **Veterinary Record**. v.98, n.25, p.499-501, 1976.
- BRANDT, G. e LIMA, I. Novidades no manejo reprodutivo da leitoa: experiência do 4º sítio. In: 4º SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS, 2005. **Anais...** Florianópolis, SC, p.68-71, 2005.
- BRANDT, G. Logística na produção de suínos: ameaça ou oportunidade. In: 13º CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2007. **Anais...** Florianópolis, SC, p.87-94, 2007.
- BRANDT, G. Quarto sítio seria a melhor solução para incorporação de matrizes de reposição em um rebanho suíno? **Acta Scientiae Veterinaria**. v.36, s.1, p.137-142, 2008.
- BROWN, H.; SPEER, V.C.; QUINN, L.Y.; HAYS, V.W.; CATRON, D.V. Studies on colostrum acquired immunity and active antibody production in baby pigs. **American Journal of Veterinary Research**. v.20, p.323-328, 1961.
- BROWN, T.T. Laboratory evaluation of selected disinfectants as virucidal agents against porcine parvovirus, pseudorabies virus, and transmissible gastroenteritis virus. **American Journal of Veterinary Research**. v.42, n.6, p.1033-1036, 1981.
- BROWN, T.T.; WHITACRE, M.D.; ROBISON, O.W. Use of an inactivated vaccine for prevention of parvovirus-induced reproductive failure in gilts. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.190, n.2, p.179-181, 1987.
- BURKEY, T.E.; MILLER, P.S.; JOHNSON, R.K.; REESE, D.E.; MORENO, R. Does dam parity affect progeny health status? In: NEBRASKA SWINE REPORT, 2008. **Proceedings...** Lincoln, NB, p.33-36, 2008.
- BUTLER, J.E.; KLOBASA, F.; WERHAHN, E. The differential localization of IgA, IgM and IgG in the gut of suckled neonatal piglets. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.2, n.1, p.53-65, 1981.
- BUTLER, J.E.; ZHAO, Y.; SINKORA, M.; WERTZ, N.; KACSKOVICS, I. Immunoglobulins, antibody repertoire and B cell development. **Developmental and Comparative Immunology**. v.33, n.3, p.321-333, 2009.
- CAMPRODON, A.; AYLLÓN, S.; BARCELÓ, J. Producción de nulíparas em explotaciones separadas. In: VI SYMPOSIUM INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN E I.A. PORCINA, 1999. **Anais...** Madrid, p. 93-97, 1999.

CARTWRIGHT, S.F. e HUCK, R.A. Viruses isolated in association with herd infertility, abortions and stillbirths in pigs. **Veterinary Record**. v.81, p.196-197, 1967.

CHEN, H.Y.; LI, X.K.; CUI, B.A.; WEI, Z.Y.; LI, X.S.; WANG, Y.B.; ZHAO, L.; WANG, Z.Y. A TaqMan-based real-time polymerase chain reaction for the detection of porcine parvovirus. **Journal of Virological Methods**. v.156, n.1-2, p.84-88, 2009.

CHENG, W.X.; LI, J.S.; HUANG, C.P.; YAO, D.P.; LIU, N.; CUI, S.X.; JIN, Y.; DUAN, Z.J. Identification and nearly full-length genome characterization of novel porcine bocavirus. **PLoS One**. v.5, n.10, p.1-8, 2010.

CHEUNG, A.K.; WU, G.; WANG, D.; BAYLES, D.O.; LAGER, K.M.; VINCENT, A.L. Identification and molecular cloning of a novel porcine parvovirus. **Archives of Virology**. v.155, n.5, p.801-806, 2010.

CIACCI-ZANELLA, J.R. e MORÉS, N. Diagnosis of post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Brazil caused by porcine circovirus type 2. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.55, n.5, p.522-527, 2003.

CIACCI-ZANELLA, J.R. e MORÉS, N. Síndrome multissistêmica do desmame do leitão desmamado (SMDLD) causada pelo circovírus suíno. In: CONGRESO MERCOSUR DE PRODUCCIÓN PORCINA, 2000. **Memoria...** Buenos Aires, p.16, 2000.

CUTLER, R.S.; MOLITOR, T.W.; LEMAN, A.D.; SAUBER, T.E. Effect of porcine parvovirus serostatus on the reproductive performance of mated gilts in an infected herd. **American Journal of Veterinary Research**. v.43, n.6, p.935-937, 1982.

CUTLIP, R.C. e MENGELING, W.L. Experimentally induced infection of neonatal swine with porcine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research**. v.36, n.8, p.1179, 1975.

DAMM, B.I.; FRIGGENS, N.C.; NIELSEN, J.; INGVARTSEN, K.L.; PEDERSEN, L.J. Factors affecting the transfer of porcine antibodies from sow to piglets. **Journal of Veterinary Medicine, A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine**. v.49, n.9, p.487-495, 2002.

DEA, S.; ELAZHARY, M.A.; MARTINEAU, G.P.; VAILLANCOURT, J. Parvovirus-like particles associated with diarrhea in unweaned piglets. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. v.49, n.3, p.343-345, 1995.

DUHAMEL, G.E.; BARGAR, T.W.; SCHMITT, B.J.; MOLITOR, T.W.; LU, W. Identification of parvovirus-like virus particles in intestinal crypt epithelial cells of pigs with diarrhea. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.3, n.1, p.96-98, 1991.

EDWARDS, K.R. e THORNTON, D.H. Tissue culture infectivity assay for porcine parvovirus. **Veterinary Record**. v.115, n.5, p.108, 1984.

ELLIS, J.; CLARK, E.; HAINES, D.; WEST, K.; KRAKOWKA, S.; KENNEDY, S.; ALLAN, G.M. Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. **Veterinary Microbiology**. v.98, n.2, p.159-163, 2004.

EVANS, P.A.; NEWBY, T.J.; STOKES, C.R.; BOURNE, F.J. A study of cells in the mammary secretions of sows. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.3, n.5, p.515-527, 1982.

FAUQUET, C.M. e FARGETTE, D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. **Virology Journal**. v.2, n.64, p.1-10, 2005.

FERNANDES, L.T.; CIACCI-ZANELLA, J.R.; SOBESTIANSKY, J.; SCHIOCHET, M.F.; TROMBETTA, C. Coinfecção experimental de circovírus suíno tipo 2 isolado do Brasil e parvovírus suíno em suínos SPF. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.58, n.1, p.1-8, 2006.

FOXCROFT, G. e AHERNE, F. Differentiated parity management. In: BANFF PORK SEMINAR, 2001. **Proceedings...** BANFF, AB, p.197-210, 2001.

FOXCROFT, G.; PATTERSON, J.; BELTRANENA, E.; PETTITT, M. Identifying the true value of effective replacement gilt management. In: PROCEEDINGS OF THE MANITOBA SWINE SEMINAR, 2004. **Proceedings...** WINNIPEG, MB, p.35-51, 2004.

GASKINS, H.R. e KELLEY, K.W. Immunology and neonatal mortality. In: VARLEY, M.A. **The Neonatal Pig Development and Survival**. Cab International: Wallingford, 1995. p.39-55.

GAVA, D.; STRECK, A.F.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R.; CIACCI-ZANELLA, J.R.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P.; CANAL, C.W. Detecção do parvovírus suíno no soro de fêmeas suínas de acordo com a ordem de parto através de nested-PCR. In: IV FÓRUM INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA – PORK EXPO, 2008. **Anais...** Curitiba, PR, p.67-69, 2008.

GOUVÊIA, A.M.G.; GOMEZ, M.C.; REIS, R. Alterações reprodutivas e prevalência de anticorpos inibidores de hemaglutinação para o parvovírus suíno no estado de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.4, n.1, p.17-22, 1984.

GRADIL, C.; MOLITOR, T.; HARDING, M.; CRABO, B. Excretion of porcine parvovirus through the genital tract of boars. **American Journal of Veterinary Research**. v.51, n.3, p.359-362, 1990.

HEUSER, W. Gilt pool management, acclimatization and verification. In: AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS, 1999. **Proceedings...** ST. LOUIS, MO, p.469-471, 1999.

HIJIKATA, M.; ABE, K.; WIN, K.M.; SHIMIZU, Y.K.; KEICHO, N.; YOSHIKURA, K. Identification of new parvovirus DNA sequence in swine from Myanmar. **Japanese Journal of Infectious Diseases**. v.55, n.6, p.244-245, 2001.

HORWITZ, M.S. Parvoviridae: The Viruses and Their Replication. In: FIELDS, B.N.; KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. **Fields Virology**. Philadelphia: Lippincott- Raven, 1996. 2587p.

JOHNSON, R.H. e COLLINGS, D.F. Transplacental infection of piglets with a porcine

parvovirus. **Research in Veterinary Science**. v.12, n.6, p.570-572, 1971.

JOHNSON, R.H.; DONALDSON-WOOD, C.; ALLENDER, U. Observations on the epidemiology of porcine parvovirus. **Australian Veterinary Journal**. v.52, n.2, p.80-84, 1976.

JOO, H.S. e JOHNSON, R.H. Serological response in pigs vaccinated with inactivated porcine parvovirus. **Australian Veterinarian Journal**. v.53, n.11, p.550-553, 1977.

JOO, H.S.; DONALDSON-WOOD, C.R.; JOHNSON, R.H. A microneutralization test for the assay of porcine parvovirus antibody. **Archives of Virology**. v.47, n.4, p.337-341, 1975.

JOO, H.S.; DONALDSON-WOOD, C.R.; JOHNSON, R.H. A standardized haemagglutination inhibition test for porcine parvovirus antibody. **Australian Veterinary Journal**. v.52, n.9, p.422-444, 1976.

KENNEDY, S.; MOFFETT, D.; McNEILLY, F.; MEEHAN, B.; ELLIS, J.; KRAKOWKA, S.; ALLAN, G.M. Reproduction of lesions of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus. **Journal of Comparative Pathology**. v.122, n.1, p.9-24, 2000.

KIRKWOOD, R.N. e THAKER, P.A. Management of replacement breeding animals. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Swine Reproduction**. v.8, n.3, p.575-587, 1992.

KLOBASA, F., AGR, D.; BUTLER, J.E. Absolute and relative concentrations of immunoglobulins G, M, and A, and albumin in the lacteal secretion of sows of different lactation numbers. **American Journal of Veterinary Research**. v.48, n.2, p.176-182, 1987a.

KLOBASA, F.; HABE, F.; WERHAHN, E.; BUTLER, J.E. The influence of age and breed on the concentrations of serum IgG, IgA and IgM in sows throughout the reproductive cycle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.10, n.4, p.355-366, 1985.

KLOBASA, F.; WERHAHN, E.; BUTLER, J.E. Composition of sow milk during lactation. **Journal of Animal Science**. v.64, n.5, p.1458-1466, 1987b.

KLOBASA, F.; WERHAHN, E.; BUTLER, J.E. Regulation of humoral immunity in the piglet by immunoglobulins of maternal origin. **Research in Veterinary Science**. v.31, n.2, p.195-206, 1981.

KRAKOWKA, S.; ELLIS, J.A.; MEEHAN, B.; KENNEDY, S.; McNEILLY, F.; ALLAN, G. Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by co-infection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. **Veterinary Pathology**. v.37, n.3, p.254-263, 2000.

KRESSE, J.I.; TAYLOR, W.D.; STEWART, W.W.; EERNISSE, K.A. Parvovirus infection in pigs with necrotic and vesicle-like lesions. **Veterinary Microbiology**. v.10, n.6, p.525-531, 1985.

LADEKJAER-MIKKELSEN, A.S.; e NIELSEN, J. A longitudinal study of cell-mediated

immunity in pigs infected with porcine parvovirus. **Viral Immunology**. v.15, n.2, p.373–384, 2002.

LAGER, K.M.; MENGELING, W.L.; LIU, W. Comparison of the virulence of two isolates of porcine parvovirus in 72-day-old porcine fetuses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.4, n.3, p.245-248, 1992.

LAU, S.K.P.; WOO, P.C.Y.; TSE, H.; FU, C.T.Y.; AU, W.; CHEN, X.; TSOI, H.; TSANG, T.H.F.; CHAN, J.S.Y.; TSANG, D.N.C.; LI, K.S.M.; TSE, C.W.S.; NG, T.; TSANG, O.T.Y.; ZHENG, B.; TAM, S.; CHAN, K.; ZHOU, B.; YUEN, K. Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus 4. **Journal of General Virology**. v.89, n.8, p.1840–1848, 2008.

LENGHAUS, C.; FORMAN, A.J.; HALE, C.J. Experimental infection of 35, 50 and 60 day old pig foetuses with porcine parvovirus. **Australian Veterinary Journal**. v.54, n.9, p.418, 1978.

LU, J.; ZHAO, J.; FANG, L.; HE, Q.; CAO, S.; CHEN, H. A slide latex agglutination test for the rapid detection of antibodies in serum against porcine parvovirus. **Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases and Veterinary Public Health**. v.53, n.2, p.59-61, 2006.

LYOO, K.; PARK, Y.; PARK, B. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus from aborted fetuses and pigs with respiratory problems in Korea. **Journal of Veterinary Science**. v.2, n.3, p.201-207, 2001.

MADSEN, E.S.; MADSEN, K.G.; NIELSEN, J.; JENSEN, M.H.; LEI, J.C.; HAVE, P. Detection of antibodies against porcine parvovirus nonstructural protein NS1 may distinguish between vaccinated and infected pigs. **Veterinary Microbiology**. v.54, n.1, p.1-16, 1997.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 15/10/2008. (Instrução Normativa, 19).

MARANGA, L.; RUEDA, P.; ANTONIS, A.F.; VELA, C.; LANGEVELD, J.P.; CASAL, J.I.; CARRONDO, M.J. Large scale production and downstream processing of a recombinant porcine parvovirus vaccine. **Applied Microbiology & Biotechnology**. v.59, n.1, p.45-50, 2002.

MARTINS SOARES, R.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B.; SAKAMOTO, S.M.; MARTINS, V.G.; BACCI, M.; DE CAMPOS FERNANDES, F.M.; RICHTZENHAIN, L.J. Genetic variability of porcine parvovirus isolates revealed by analysis of partial sequences of the structural coding gene VP2. **The Journal of General Virology**. v.84, n.6, p.1505-1515, 2003.

MARTINS, R.M.; ROEHE, P.M.; GUIMARÃES, L.J.; RANGEL, E.V. Sorologia de parvovírus suíno em granjas do estado de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. In: V CONGRESSO NACIONAL DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 1984. **Anais...** Curitiba, PR. p.39, 1984.

MENGELING, W.L. e CUTLIP, R.C. Reproductive disease experimentally induced by exposing pregnant gilts to porcine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research**. v.37, n.12, p.1393-1400, 1976.

MENGELING, W.L. Porcine Parvovirus. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**. 8.ed. Iowa State University Press: Ames, 1999. Cap.8, p.119-124.

MENGELING, W.L. Porcine parvovirus: properties and prevalence of a strain isolated in the United States. **American Journal of Veterinary Research**. v.33, n.11, p.2239-2248, 1972.

MENGELING, W.L. Prenatal infection following maternal exposure to porcine parvovirus on either the seventh or fourteenth day of gestation. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. v.43, n.1, p.106, 1979.

MENGELING, W.L.; LAGER, K.M.; VORWALD, A.C. The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. **Animal Reproduction Science**. v.60-61, p.199-210, 2000.

MENGELING, W.L.; BROWN, T.T.; PAUL, P.S., GUTEKUNST, D.E. Efficacy of an inactivated virus vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. **American Journal of Veterinary Research**. v.40, n.2, p.204-207, 1979.

MENGELING, W.L.; CUTLIP, R.C.; WILSON, R.A.; PARKS, J.B.; MARSHALL, R.F. Fetal mummification associated with porcine parvovirus infection. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.166, n.10, p.993-995, 1975.

MIAO, L.F.; ZHANG, C.F.; CHEN, C.M.; CUI, S.J. Real-time PCR to detect and analyze virulent PPV loads in artificially challenged sows and their fetuses. **Veterinary Microbiology**. v.138, n.1-2, p.145-149, 2009.

MIRANDA, A.C.C.; REIS, R.; LEITE, R.C. Avaliação da sensibilidade de linhagens celulares ao parvovírus suínos (PPV). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.43, n.4, p.297-310, 1992.

MOLITOR, T.W.; JOO, H.S.; THACKER, B.J. Potentiating effect of adjuvants on humoral immunity to porcine parvovirus vaccines in guinea pigs. **Veterinary Microbiology**. v.10, n.3, p.209-128, 1985.

MOLITOR, T.W.; ORAVEERAKUL, K.; ZHANG, Q.Q.; CHOI, C.S.; LUDEMANN, L.R. Polymerase chain reaction (PCR) amplification for the detection of porcine parvovirus. **Journal of Virological Methods**. v.32, n.2-3, p.201-211, 1991.

MOORE, C.; ROBITAILLE, S.; VIGNOLA, M.; ROBITAILLE, R. Rethinking management of the replacement gilt. In: BANFF PORK SEMINAR, 2005. **Proceedings...** BANFF, AB, p.291-296, 2005.

MORAES, M.P. e COSTA, P.R.S. Parvoviridae. In: FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. Editora UFSM: Santa Maria, 2007. Cap.14, p.377-396.

MORÉS, N.; AMARAL, A.L.; SILVEIRA, P.R.S. Cuidados com a leitoa de reposição. Concórdia:

Embrapa Suínos e Aves, 1999. 2p. (Embrapa Suínos e Aves. Instrução Técnica para o Suinocultor, 14).

MORRISON, B.; LARRIESTRA, A.; YAN, J.; DEEN, J. Determining optimal parity distribution with a push model of gilt supply. In: ALLEN LEMAN SWINE CONFERENCE, 2002. **Proceedings....** SAINT PAUL, MN, p.173-177, 2002.

ORAVAINEN, J.; HAKALA, M.; RAUTIAINEN, E.; VEIJALAINEN, P.; HEINONEN, M.; TAST, A.; VIROLAINEN, J.V; PELTONIEMI, O.A.T. Parvovirus antibodies in vaccinated gilts in field conditions - results with HI and ELISA tests. **Reproduction in Domestic Animals.** v.41, n.1, p.91-93, 2006.

ORAVAINEN, J.; HEINONEN, M.; TAST, A; VIROLAINEN, J.; PELTONIEMI, O. High porcine parvovirus antibodies in sow herds: prevalence and associated factors. **Reproduction of Domestic Animals.** v.40, n.1, p.57-61, 2005.

ORAVEERAKUL, K.; CHOI, C.S.; MOLITOR, T.W. Restriction of porcine parvovirus replication in nonpermissive cells. **Journal of Virology.** v.66, n.2, p.715-722, 1992.

ORAVEERAKUL, K.; CHOI, C.S; MOLITOR, T.W. Detection of porcine parvovirus using nonradioactive nucleic acid hybridization. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.** v.2, n.2, p.85-89, 1990.

PAN, Q.; HE, K.; HUANG, K. Development of recombinant porcine parvovirus-like particles as an antigen carrier formed by the hybrid VP2 protein carrying immunoreactive epitope of porcine circovirus type 2. **Vaccine.** v.26, n.17, p.2119-2126, 2008.

PAUL, P.S.; MENGELING, W.L.; BROWN, T.T. Effect of vaccinal and passive immunity on experimental infection of pigs with porcine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research.** v.41, n.9, p.1368-1371, 1980.

PAUL, P.S.; MENGELING, W.L.; PIRTLE, E.C. Duration and biological half-life of passively acquired colostral antibodies to porcine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research.** v.43, n.8, p.1376-1379, 1982.

PESCADOR, C.A.; BANDARRA, P.M.; CASTRO, L.A.; ANTONIASSI, N.A.B.; RAVAZZOLO, A.P.; SONNE, L.; CRUZ, C.E.F.; DRIEMEIER, D. Co-infection by porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus in aborted fetuses and stillborn piglets in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v.27, n.10, p.425-429, 2007.

POGRANICHNIY, R.; LEE, K.; MACHATY, Z. Detection of porcine parvovirus in the follicular fluid of abattoir pigs. **Journal of Swine Health and Production.** v.16, n.5, p.244-246, 2008.

PYE, D.; BATES, J.; EDWARDS, S.J.; HOLLINGWORTH, J. Development of a vaccine preventing parvovirus-induced reproductive failure in pigs. **Australian Veterinary Journal.** v.67, n.5, p.179-182, 1990.

QING, L.; LV J.; LI, H.; TAN, Y.; HAO, H.; CHEN, Z.; ZHAO, J.; CHEN, H. The recombinant

nonstructural polyprotein NS1 of porcine parvovirus (PPV) as diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated pigs. **Veterinary Research Communications**. v.30, n.2, p.175-190, 2006.

RANZ, A.I.; MANCLÚS, J.J.; DÍAZ-AROCA, E.; CASAL, J.I. Porcine parvovirus: DNA sequence and genome organization. **The Journal of General Virology**. v.70, n.10, p.2541-2553, 1989.

RIVERA, E.; SJÖLAND, L.; KARLSSON, K.A. A solid phase fluorescent immunoassay for the rapid detection of virus antigen or antibodies in fetuses infected with porcine parvovirus. **Archives of Virology**. v.88, n.1-2, p.19-26, 1986.

RODRIGUEZ, C.A.R.; HOMEM, V.S.F.; HEINEMANN, M.B.; FERREIRA NETO, J.S.; RICHTZENHAIN, L.J.; SOARES, R.M. Soroprevalência de anticorpos anti-parvovírus suíno em suínos do município de Uruará, estado do Pará. **Arquivo do Instituto Biológico**. v.70, n.4, p.501-503, 2003.

ROEHE, P.M.; SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. Parvovirose. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças de Suínos**. Cânone Editorial: Goiânia, 2007. p.286-293.

ROIC, B.; CAJAVEC, S.; ERGOTIC, N.; LIPEJ, Z.; MADIC, J.; LOJKIC, M.; POKRIC, B. Immune complex-based vaccine for pig protection against parvovirus. **Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases and Veterinary Public Health**. v.53, n.1, p.17-23, 2006.

ROIC, B.; CAJAVEC, S.; TONCIC, J.; MADIC, J.; LIPEJ, Z.; JEMERSIC, L.; LOJKIC, M.; MIHALJEVIC, Z.; CAC, Z.; SOSTARIC, B. Prevalence of antibodies to porcine parvovirus in wild boars (*Sus scrofa*) in Croatia. **Journal of Wildlife Diseases**. v.41, n.4, p.796-799, 2005.

RUEDA, P.; MORÓN, G.; SARRASECA, J.; LECLERC, C.; CASAL, J.I. Influence of flanking sequences on presentation efficiency of a CD8⁺ cytotoxic T-cell epitope delivered by parvovirus-like particles. **Journal of General Virology**. v.85, .3, p.563-572, 2004.

RUIZ-FONS, F.; VICENTE, J.; VIDAL, D.; HÖFLE, U.; VILLANÚA, D.; GAUSS, C.; SEGALÉS, J.; ALMERÍA, S.; MONTORO, V.; GORTÁZAR, C. Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: the effect on wild boar female reproductive performance. **Theriogenology**. v.65, n.4, p.731-743, 2006.

SALMON, H. Immunity in the fetus and the newborn infant: a swine model. **Reproduction, Nutrition, Development**. v.24, n.2, p.197-206, 1984.

SALMON, H. The mammary gland and neonate mucosal immunity. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.72, n.1-2, p.143-155, 1999.

SALMON, H.; BERRI, M.; GERDTS, V.; MEURENS, F. Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. **Developmental and Comparative Immunology**. v.33, n.3, p.384-393, 2009.

SIMPSON-MORGAN, M.W. e SMEATON, T.C. The transfer of antibodies by neonates and

adults. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**. v.16, n.1, p.355-386, 1972.

SOARES, R.M.; DURIGON, E.L.; BERSANO, J.G.; RICHTZENHAIN, L.J. Detection of porcine parvovirus DNA by the polymerase chain reaction assay using primers to the highly conserved nonstructural protein gene, NS-1. **Journal of Virological Methods**. v.78, n.1-2, p.191-198, 1999.

SONG, C.; ZHU, C.; ZHANG, C.; CUI, S. Detection of porcine parvovirus using a taqman-based real-time pcr with primers and probe designed for the NS1 gene. **Virology Journal**. v.7, n.1, p.353-356, 2010.

SOUÇIE, J. M.; ERDMAN, D. D.; EVATT, B.L.; ANDERSON, L.J.; TOROK, T.J.; EL-JAMIL, M.; BARNHART, E.; TEPPER, M.; BURRIL, H.N.; PICKETT, A.M.; MENGELING, W.L. Investigation of porcine parvovirus among persons with hemophilia receiving Hyate: C porcine factor VIII concentrate. **Transfusion Complications**. v.40, n.6, p.708-711, 2000.

STRECK, A.F.; GAVA, D.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R. BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I.; CANAL, C.W. Presence of porcine parvovirus in sera from pigs is independent of antibody titers. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**. v.124, n.5-6, p.242-246, 2011a.

STRECK, A.F.; BONATTO, S.L.; HOMEIER, T.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R. GAVA, D.; CANAL, C.W., TRUYEN, U. High rate of viral evolution in the capsid protein of porcine parvovirus. **Journal of General Virology**. v.92, 2011b.

SUZUKI, H. e FUJISAKI, Y. Immunizing effects of inactivated porcine parvovirus vaccine on piglets. **Bulletin of the National Institute of Animal Health**. v.72, p.17-23, 1976.

THACKER, B.J.; JOO, H.S.; WINKELMAN, N.L.; LEMAN, A.D.; BARNES, D.M. Clinical, virologic, and histopathologic observations of induced porcine parvovirus infection in boars. **American Journal of Veterinary Research**. v.48, n.5, p.763-767, 1987.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**. 2ªed. Ed. Rocca – São Paulo. 2004. 556p.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária – uma introdução**. 6ªed. Rocca, São Paulo, 2002. 532p.

TOO, H.L. e LOVE, R.J. Some epidemiological features and effects on reproductive performance of endemic porcine parvovirus infection. **Australian Veterinary Journal**. v.63, n.2, p.50-53, 1986.

TOO, H.L.; SEAMAN, J.T.; LITTLEJOHNS, I.R.; LOVE, R.J. Evaluation of a gel diffusion precipitin test for porcine parvovirus. **Australian Veterinary Journal**. v.60, n.6, p.161-165, 1983.

WAGSTROM, E.A.; YOON, K.; ZIMMERMAN, J.J. Immune components in porcine mammary secretions. **Viral Immunology**. v.13, n.3, p.383-397, 2000.

WALDVOGEL, A.S.; BROLL, S.; ROSSKOPF, M.; SCHWYZER, M.; POSPISCHIL, A. Diagnosis of fetal infection with porcine parvovirus by in situ hybridization. **Veterinary Microbiology**. v.47, n.3-4, p.377-385, 1995.

WATSON, D.L. Immunological functions of the mammary gland and its secretion—comparative review. **Australian Journal of Biological Sciences**. v.33, n.4, p.4013-4022, 1980.

WATTANAVIJARN, W.; TESPRATEEP, T.; BURKE, D.S. Absence of porcine parvovirus transmission to man. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.79, n.4, p.561, 1985.

WENTZ, I.; PANZARDI, A.; MELLAGI, A.P.G; BORTOLOZZO, F.P. Cuidados com a leitoa entre a entrada na granja e a cobertura: procedimentos com vistas à produtividade e longevidade da matriz. **Acta Scientiae Veterinaria**. v.35, s.1, p.17-27, 2007.

WILHELM, S.; ZIMMERMANN, P.; SELBITZ, H.J.; TRUYEN, U. Real-time PCR protocol for the detection of porcine parvovirus in field samples. **Journal of Virological Methods**. v.134, n.1-2, p.257-260, 2006.

WILSON, M.R. Immunologic development of the neonatal pig. **Journal of Animal Science**. v.38, n.5, p.1018-1021, 1974.

WOLF, V.H.; MENOSSI, M.; MOURÃO, G.B.; GATTI, M.S. Molecular basis for porcine parvovirus detection in dead fetuses. **Genetics and Molecular Research**. v.7, n.2, p.509-517, 2008.

WRATHALL, A.E.; WELLS, D.E.; CARTWRIGHT, S.F.; FRERICHS, G.N. An inactivated, oil emulsion vaccine for the prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. **Research in Veterinary Science**. v.36, n.2, p.136-143, 1984.

YIGANG, X.U. e YIJING, L.I. Construction of recombinant *Lactobacillus casei* efficiently surface displayed and secreted porcine parvovirus VP2 protein and comparison of the immune responses induced by oral immunization. **Immunology**. v.124, n.1, p.68-75, 2008.

ZEEUW, E.J.L.; LEINECKER, N.; HERWIG, V.; SELBITZ, H.J.; TRUYEN, U. Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts. **Journal of General Virology**. v.88, n.2, p.420-427, 2007.

ZHANG, C.F.; SONG, C.P.; CHEN, C.M.; CUI, S.J.; MIAO, L.F. Reproductive failure in wild boars associated to porcine parvovirus infection and in vivo and in vitro characterization of the causal. **Tropical Animal Health and Production**. v.42, n.8, p.1611-1613, 2010.