

LUIZ HENRIQUE SILVA BULOS

**PERFIL SOROLÓGICO E VIRÊMICO DE SUÍNOS DA RAÇA PIAU E LINHAGEM  
COMERCIAL NATURALMENTE INFECTADOS COM O *Porcine circovirus 2* EM  
DIFERENTES FASES DE PRODUÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2013**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

B939p  
2013

Bulos, Luiz Henrique Silva, 1986-

Perfil sorológico e virêmico de suínos da raça Piau e linhagem comercial naturalmente infectados com o *Porcine circovirus 2* em diferentes fases de produção / Luiz Henrique Silva

Bulos. – Viçosa, MG, 2013.

viii, 29 f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Abelardo Silva Júnior.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: p. 20-28.

1. Suíno - Doenças. 2. *Porcine circovirus 2*. 3. Sorologia veterinária. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22. ed. 636.4089691

LUIZ HENRIQUE SILVA BULOS

**PERFIL SOROLÓGICO E VIRÊMICO DE SUÍNOS DA RAÇA PIAU E  
LINHAGEM COMERCIAL NATURALMENTE INFECTADOS COM O *Porcine  
circovirus 2* EM DIFERENTES FASES DE PRODUÇÃO.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – UFV, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 04 de junho de 2013

---

Prof. José Domingos Guimarães  
(Co-orientador)

---

Profa. Maria Aparecida Scatamburlo Moreira  
(Co-orientadora)

---

Dra. Jamaría Adriana Pinheiro S. Martins

---

Prof. Dr. Abelardo Silva Júnior  
(Orientador)

**O primeiro segredo para ser um grande homem é saber que o seu maior obstáculo é você mesmo. O segundo é superar esse obstáculo todos os dias.**

## **AGRADECIMENTOS**

**Aos meus pais pelo amor e por serem os meus maiores exemplos.**

**Ao meu irmão Fernando, um exemplo de perseverança e superação, pela amizade.**

**Aos meus irmãos de república, Thiago (Bombinha), Hugo Chan, Murilo Empadinha, Murilete, Cirinete e Daniel pela fraternidade, companheirismo e pelas bagunças... Aúúú!!!**

**Aos irmãos Vasco e Gela! Essa amizade que não tem prazo de validade!**

**Aos amigos da VET05 pelos 5 anos bem vividos de Veterinária e de Viçosa.**

**Aos irmãos da VET05 Carecão, Hamilton, Macelim e Guilherme Jow pelos 5 anos de graduação e pela amizade que permanece!**

**Ao grande Marcão, mais do que um companheiro de mestrado e consultor científico, mais um irmão que entrou pro time! Essa é nossa meu parça!**

**Aos amigos da Preventiva, Carol, Dani, Otávio, Viviane, Raquel, Marina, Janine, Vitão, João Vítor e Reginaldo pelas risadas, amizade e convivência! A fila anda e a minha hora chegou! Fui!**

**Aos amigos Thiago, Sthefanny, JC e David pela ajuda na realização do experimento. Esse trabalho também é de vocês! Muito obrigado!**

**Aos funcionários e amigos do DVT: Marquinho (Mestre de todos os mestres), Seu Luís, Dagô, Batalha, Hélcio, Seu Divino, Evandro e Seu Didi pela amizade.**

**Ao professor Abelardo pelos ensinamentos e orientação.**

**Ao professor JD pelos ensinamentos, pela ajuda nas estatísticas e por ter perdido comigo parte do seu precioso tempo!**

**Ao professor Paulo Sávio e professora Simone por terem aberto as portas Granja de Melhoramento Genético e permitido que este trabalho fosse realizado.**

**À professora Márcia Rogéria e ao Laboratório de Infectologia Molecular Animal.**

**À FAPEMIG pelo apoio financeiro.**

**Aos maus exemplos de pessoas e profissionais que tive a possibilidade de conhecer na minha vida por terem me dado a oportunidade de conhecer algo que nunca quero ser.**

**Aos bons exemplos de pessoas e profissionais que tive oportunidade de conhecer e me motivam a ser melhor a cada dia.**

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E FIGURAS .....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	2
2.1 Infecção pelo PCV2.....	2
2.2 Resposta imune ao PCV2 .....	5
2.3 Genética do hospedeiro e a ocorrência das PCVAD .....	6
2.4 A raça Piau .....	8
3.OBJETIVOS .....	9
3.1 Objetivo geral .....	9
3.2 Objetivos específicos.....	9
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
4.1 Cálculo de amostragem e coleta de amostras.....	10
4.2 Determinação do nível de anticorpos totais anti-PCV2 por meio de ELISA indireto.....	11
4.3 Extração do DNA e quantificação da viremia através da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR).....	12
4.4 Análise estatística.....	13
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	13
6. CONCLUSÕES .....	20
7. PERSPECTIVAS .....	20
8. REFERÊNCIAS .....	21
ANEXOS .....	29

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

- Tabela 1.** População de cada raça, percentual amostrado e quantidade de indivíduos a serem amostrados em cada fase de produção dos dois grupos genéticos. A idade de cada fase é dada em semanas, exceto para as porcas, que é dada em número de partos.....9
- Tabela 2.** Oligonucleotídeos e sonda utilizados na reação de PCR em tempo real.....11
- Figura 1.** Comparação entre os dois grupos genéticos quanto ao percentual de animais soropositivos para o PCV2 em cada fase de produção.....13
- Figura 2.** Perfil sorológico da raça Piau e da linhagem comercial durante as fases de produção.....15
- Figura 3.** Comparação da viremia dos dois grupos genéticos em cada fase de produção.....16

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>BSA</b>	Soroalbumina bovina
<b>CEUA</b>	Comissão de Ética no Uso de Animais
<b>Ct</b>	<i>Threshold cycle</i>
<b>D.O.</b>	Densidade óptica
<b>ELISA</b>	Ensaio de imunoabsorção por ligação enzimática
<b>GMS</b>	Granja de Melhoramento de Suínos
<b>IgG</b>	Imunoglobulina G
<b>IgM</b>	Imunoglobulina M
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>OPD</b>	0-Phenylenediamine
<b>PCR</b>	Reação da pólimerase em cadeia
<b>PCV1</b>	<i>Porcine circovirus 1</i>
<b>PCV2</b>	<i>Porcine circovirus 2</i>
<b>PCVAD</b>	Doenças associadas ao circovírus suíno
<b>PDNS</b>	Síndrome da dermatite e nefropatia
<b>PMWS</b>	Síndrome multissistêmica do definhamento pós-desmame
<b>PNP</b>	Pneumonia proliferativa e necrosante
<b>PRDC</b>	Complexo da doença respiratória dos suínos
<b>qPCR</b>	Reação da polimerase em cadeia quantitativa
<b>rCap</b>	Proteína recombinante do capsídeo
<b>TLR6</b>	Receptor Toll tipo 6

## RESUMO

BULOS, Luiz Henrique Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2013. **Perfil sorológico e virêmico de suínos da raça Piau e linhagem comercial naturalmente infectados com o *Porcine circovirus 2* em diferentes fases de produção.** Orientador: Abelardo Silva Júnior. Coorientadores: Maria Aparecida Scatamburlo Moreira, José Domingos Guimarães, Lindomar José Pena e Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo.

As doenças associadas ao PCV2 (PCVAD) necessitam de vários fatores para ocorrer, no entanto, a infecção pelo vírus é fundamental para o desenvolvimento de qualquer uma das síndromes. O presente estudo teve como objetivo verificar diferenças nos perfis sorológicos e virêmicos para o PCV2 entre suínos da raça Piau e de uma linhagem comercial (Landrace x Large White x Pietrain) em uma granja subclínicamente infectada pelo vírus estudado. O experimento foi realizado na Granja de Melhoramento Genético (GMS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), na qual não é realizada a vacinação contra o PCV2. O presente estudo realizou uma amostragem transversal em porcas (>2º parto), suínos de 1-3 semanas, 3-8 semanas e 8-22 semanas de idade. As amostras de soro obtidas foram utilizadas para mensuração dos níveis de anticorpos totais por ELISA indireto e quantificação da viremia por PCR em tempo real. Os resultados demonstraram que, na idade de 3-8 semanas, os leitões da raça Piau soroconverteram mais precocemente em relação aos leitões da linhagem comercial e as porcas da raça Piau apresentaram menores níveis de anticorpos totais em relação às da linhagem comercial. Não houve diferença na viremia entre as diferentes fases de produção dentro de cada grupo genético ou entre os grupos. Este trabalho fornece indícios de que a raça Piau apresenta uma resposta imune humoral diferente da desenvolvida pela linhagem comercial estudada diante de uma infecção subclínica natural pelo PCV2. Os resultados obtidos neste estudo reforçam a importância da conservação das raças nativas que não foram utilizadas para formação de linhagens de alta produtividade.

## ABSTRACT

BULOS, Luiz Henrique Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2013. **Serologic and viremic profile of Piau breed and commercial lineage swines naturally infected with Porcine circovirus 2 in different production stages.** Adviser: Abelardo Silva Júnior. Co-advisers: Maria Aparecida Scatamburlo Moreira, José Domingos Guimarães, Lindomar José Pena and Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo.

The diseases associated with PCV2 (PCVAD) require various factors to occur, however, the virus infection is critical to the development of any one of the syndromes. The present study aimed to determine differences in serologic and viremic profiles for PCV2 in the swine breed Piau and a commercial line (Landrace x Large White x Pietrain) at a subclinically infected farm by the virus studied. The experiment was conducted at the Genetic Improvement Pig Farm (GMS), Federal University of Viçosa (UFV), in which it isn't carried out vaccination against PCV2. This study conducted a cross-sectional sample of sows (> 2 parity), pigs for 1-3 weeks, 3-8 weeks and 8-22 weeks of age. The serum samples were used to measure the level of total antibodies by ELISA and quantitation of viremia by real time PCR. The results showed that, at the age of 3-8 weeks, the Piau breed piglets seroconverted earlier than the commercial line piglets and the Piau breed sows showed lower levels of total antibodies in relation to the commercial line. There were no differences in viremia between the different stages of production within each genetic group or between groups. This work provides evidence that the breed Piau has a different humoral immune response than the commercial line studied when facing a natural PCV2 subclinical infection. The results of this study reinforce the importance of the conservation of native breeds that have not been used for development of high productivity commercial lines.

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente o *Porcine circovirus 2* é amplamente distribuído em suínos domésticos de todo o mundo sendo responsável por causar um conjunto de síndromes multifatoriais conhecidas como doenças associadas ao PCV2 (PCVAD) (Grau-Roma et al., 2009). A síndrome multissistêmica do definhamento pós-desmame (PMWS) é a principal síndrome dentro do complexo PCVAD em virtude de ser a maior causadora de prejuízos aos suinocultores. Além da PMWS, as outras síndromes que fazem parte do grupo das PCVAD são a síndrome da dermatite e nefropatia do suíno (PDNS), problemas reprodutivos, enterites, pneumonia proliferativa e necrosante (PNP) e o complexo da doença respiratória dos suínos (PRDC) (Opriesnig et al., 2007; Grau-Roma et al., 2010).

Praticamente todos os suínos serão infectados pelo PCV2 em algum momento da vida, no entanto, apenas alguns animais apresentarão alguma doença clínica (Young et al., 2011; Tomás et al., 2010; Darwich et al., 2008). Quando um rebanho é infectado pelo PCV2, mas não apresentam nenhuma das PCVAD, este rebanho é caracterizado como subclínicamente infectado (Opriesnig et al., 2007). Apesar da infecção subclínica ocorrer na maior parte dos suínos, sabe-se pouco a respeito da resposta imunológica em animais subclínicamente infectados pelo PCV2 (Beach e Meng, 2012; Darwich et al., 2008).

O Brasil possui diversas raças de suíno naturalizadas sendo que todas as raças suínas naturalizadas brasileiras estão ameaçadas de extinção (Mariante et. al., 2009). Dentre estas, a raça Piau é a de maior importância e uma das suas principais características é a rusticidade, necessitando de poucas exigências quanto ao manejo (Sollero, 2006; Cavalcanti, 1984). Sousa et al. (2011) forneceram indícios de que os leitões da raça Piau podem apresentar uma resposta imune diferente da apresentada pelos leitões da linhagem comercial.

Desta forma, o presente estudo tem como objetivo verificar se existe diferença entre o perfil sorológico e virêmico entre suínos da raça Piau e de uma linhagem comercial de uma granja afetada pela infecção subclínica do PCV2.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Infecção pelo PCV2**

Até o momento são conhecidas duas espécies do *Porcine circovirus*, o *Porcine circovirus 1* (PCV1) e o *Porcine circovirus 2* (PCV2). O PCV1 foi primeiramente descrito como um contaminante de células de rim de suíno (PK-15) em 1974 e embora seja onipresente na suinocultura mundial, é um vírus não patogênico, (Allan et al., 1995; Tischer et al., 1982). O PCV2, por sua vez, foi descoberto no Canadá na década de 1990, e foi apontado como o principal agente infeccioso envolvido na Síndrome da refugagem multissistêmica pós-desmame (PMWS) (Bolin et al., 2001; Kennedy et al., 2000; Allan et al., 1999).

A principal via de infecção do PCV2 é a oronasal por contato direto (Grau-Roma et al., 2011). O vírus irá infectar e replicar em linfócitos B e T presentes nos linfonodos, induzindo a apoptose dessas células e proliferação de histiócitos nos folículos linfóides (Opriesnig et al., 2007).

A infecção pelo PCV2 está associada com a ocorrência de diversas condições patológicas, sendo o conjunto dessas doenças denominado como doenças associadas ao PCV2 (PCVAD). Até o momento, as condições patológicas inclusas no grupo das PCVAD são a Síndrome da refugagem multissistêmica pós-desmame (PMWS), Síndrome da dermatite e nefropatia do suíno (PDNS), problemas reprodutivos, enterites, Pneumonia proliferativa e necrosante e o Complexo da doença respiratória dos suínos (PRDC) (Grau-Roma et al., 2011; Opriesnig et al., 2007).

A PMWS é a condição patológica mais importante dentre todas as PCVAD, sendo caracterizada como uma infecção sistêmica, na qual os animais apresentam emagrecimento progressivo, elevada viremia e alta frequência de lesões histopatológicas classificadas como graves nos linfonodos (Silva et al., 2011; Opriesnig et al., 2007; Segalés et al. 2004). A morbidade dessa doença normalmente situa-se entre 4-30%, podendo alcançar, ocasionalmente, 50-60%. A mortalidade, por sua vez, varia de 4 a 20% (Segalés e Domingo, 2002).

A síndrome da dermatite e nefropatia suína (PDNS) é uma doença que afeta animais de 1,5 a 4 meses de idade (Smith et al., 1993). Nos casos fatais, são observadas lesões cutâneas que consistem em vasculite necrotizante que afetam a derme, levando a uma necrose subcutânea e úlceras hemorrágicas dermais (Choi & Chae, 2001; Thibault et al., 1998).

A pneumonia necrotizante proliferativa (PNP) foi inicialmente descrita em 1990 no Canadá, como um problema respiratório em animais de creche e terminação (Morin et al., 1990), podendo ser causada pelo vírus influenza A (Girard et al., 1992). Outros estudos mostraram que a PNP pode ser resultado da co-infecção do PRRSV e PCV2 (Pesch et al., 2000). Além da PNP, o PCV2 tem um importante papel no desenvolvimento da PRDC. Wellenberg et al. (2010) estudou a relevância da infecção pelo PCV2 em suínos na fase de terminação de propriedades nas quais não existia a PMWS. Estes autores dividiram o conjunto de propriedades em dois grupos, sendo o primeiro nos quais era encontrada alta porcentagem de lesões pulmonares em suínos em idade de abate e o segundo grupo o que continha propriedades na qual a ocorrência dessas lesões era baixa. Dentre os diversos resultados obtidos neste estudo, Wellenberg et al. (2010) verificou que dentre os 19 pulmões de animais pertencentes ao grupo de alta porcentagem de lesões pulmonares, 11 apresentavam alta concentração de DNA do PCV2 associado a um ou mais patógenos respiratórios, enquanto que o mesmo ocorria somente em 5 dos 17 pulmões dos animais pertencentes ao grupo de baixa porcentagem de lesões pulmonares ( $P=0,02$ ). Os resultados obtidos por Wellenberg et al. (2010) demonstram que mesmo quando o rebanho não é afetado pela PMWS, o PCV2 possui grande importância como agente etiológico de doenças respiratórias.

A enterite associada ao PCV2 ocorre normalmente entre a 8ª e a 16ª semana de vida do suíno. Assim como para doenças respiratórias, o PCV2 tem grande importância na etiologia de doenças entéricas mesmo em propriedades onde não ocorre a PMWS (Kim et al., 2004; Wellenberg et al., 2010). Kim et al. (2004) verificou que em um rebanho no qual não ocorria PMWS nem a PDNS foi diagnosticado enterite associada ao PCV2 através de isolamento, histopatologia e hibridização *in situ* em leitões desmamados. Nenhum dos leitões apresentava alterações microscópicas típicas da infecção pelo PCV2 no tecido linfóide como a depleção linfóide ou a infiltração de

histiócitos nos folículos dos tecidos linfoides. Uma vez que a enterite associada ao PCV2 ocorre independente das outras PCVAD, Kim et al. (2004) propuseram os parâmetros para diagnóstico de enterites associadas ao PCV2, sendo eles 1) a presença de diarreia, 2) presença de lesões características nas placas de Peyer e ausentes em outros tecidos linfoides e 3) detecção do PCV2 (antígeno ou material genético) nas lesões.

Diversos estudos demonstram a associação do PCV2 a falhas reprodutivas manifestando-se através de abortos, retorno ao cio, natimortos e mumificação fetal (Josephson & Charbonneau, 2001; Kim et al., 2004; Ladekjaer-Mikkelsen et al., 2001; O'Connor et al., 2001; West et al., 1999). Rose et al. (2007) demonstrou a influência do PCV2 na reprodução através de infecção experimental de porcas que nunca tiveram contato prévio com o PCV2. Os autores demonstraram que a infecção experimental com o PCV2 produziu diferentes efeitos nas porcas dependendo da via de infecção utilizada e da fase de gestação das porcas. Quando as vias de infecção testadas foram a traqueal e a intra-muscular as porcas foram apresentaram febre e anorexia, o que influenciou, indiretamente, na taxa de sobrevivência fetal. Todavia, quando a via de infecção utilizada foi a intra-uterina no momento da inseminação ou a genital a sobrevivência dos fetos foi o parâmetro mais afetado, influenciando pouco a saúde da porca.

A infecção pelo PCV2 causa grandes prejuízos à suinocultura mundial, tanto na sua forma clínica quanto na sua forma subclínica. A infecção clínica provoca prejuízos em virtude do aumento do uso de antibióticos, da redução do ganho de peso diário, do aumento da conversão alimentar, refugagem, aumento na incidência de falhas reprodutivas (abortos, natimortos, mumificados), e aumento na mortalidade pré- e pós-desmame (Madec et al., 2008; Opriesnig et al., 2007; Grave et al., 2006; López-Soria et al., 2005).

A infecção subclínica, por sua vez, diminui a eficiência produtiva através da redução do ganho de peso diário e peso da carcaça, e aumento da conversão alimentar e da frequência de nascimento de leitões de baixo peso (Young et al., 2011). Estudando a influência da vacinação em um rebanho subclínicamente infectado, Young et al. (2011) verificaram que a vacinação dos animais promoviam um retorno de \$5,9 por suíno em relação aos animais não vacinados, demonstrando claramente que, mesmo sob

condições subclínicas, a infecção pelo PCV2 é um grande entrave para o lucro dos suinocultores.

Apesar de praticamente todos os animais serem infectados pelo PCV2, apenas alguns desenvolvem a doença clínica. Esta questão é um desafio a ser esclarecido na patogenia do PCV2 (Tomás et al., 2010; Darwich et al., 2008; Opriesnig et al., 2007).

Diversos estudos já demonstraram algumas diferenças existentes entre a infecção clínica e a subclínica. A carga viral nos linfonodos de ambos os grupos são semelhantes, enquanto que a frequência de lesões graves nestes órgãos e a viremia são menores em animais subclínicamente infectados se comparadas à de animais com PMWS (Silva et al., 2011; Segalés et al., 2005). A patogenia do PCV2 ainda possui diversos pontos a serem esclarecidos.

## **2.2 Resposta imune ao PCV2**

A infecção pelo PCV2 pode ocorrer durante o desenvolvimento embrionário, fetal ou pós-natal em suínos de diferentes idades (Nauwynck et al., 2012).

O título de anticorpos no soro exerce um papel importante no controle da doença por meio da redução da carga viral, podendo ser utilizado para prever o desfecho da infecção pelo PCV2 (Carasova et al., 2007). Existe uma correlação negativa entre títulos de anticorpos neutralizantes e a taxa de replicação do PCV-2, uma vez que a falta de anticorpos neutralizantes ou a sua produção diminuída está associado com o desenvolvimento da PMWS (Grau-Roma et al., 2009; Fort et al., 2007; Carasova et al., 2007; Meerts et al., 2006). Portanto, os suínos que desenvolvem uma resposta imune deficiente irão apresentar a doença clínica (Fort et al., 2007; Meerts et al., 2006). Em virtude da importância do desenvolvimento de altos títulos de anticorpos neutralizantes para o controle da viremia, esta é uma característica essencial de uma vacina eficaz (Beach e Meng, 2012).

Apesar da importância fundamental dos anticorpos neutralizantes no controle das PCVAD, sobretudo da PMWS, a resposta imune celular também tem importância no controle dessas doenças. Linfócitos TCD4<sup>+</sup> secretores de interferon  $\gamma$  (INF $\gamma$ ) têm grande importância no controle da carga viral do PCV2. Fort et al. (2009) verificaram que entre 14 e 21 dias após a infecção subclínica de suínos, houve a detecção de

linfócitos TCD4<sup>+</sup> secretores de INF $\gamma$ , fato este que coincidiu com a redução da carga viral no sangue destes animais. Isso é explicado pelo fato de o INF $\gamma$  polarizar para a síntese de IgG, anticorpo que localiza-se principalmente no soro, justamente onde é necessário ocorrer a redução da carga viral do PCV2.

O PCV2 possui tropismo para monócitos, macrófagos e células dendríticas, que apresentam papéis críticos no desenvolvimento da defesa e regulação imunológica (Darwich et al., 2003). Estas células acumulam vírus por períodos prolongados, sem que aconteça a replicação viral, exercendo um papel importante na persistência e transmissão (Pérez-Martín et al., 2007). Todavia, a infecção pelo PCV2 pode prejudicar o funcionamento das células dendríticas plasmocitóides e células dendríticas derivadas de monócitos (Balmelli et al., 2011). Vincent et al. (2003) reforça a influência negativa da infecção de células apresentadoras de antígenos pelo PCV2, uma vez que este vírus reduz a eficiência da apresentação de antígenos aos linfócitos.

A infecção pelo PCV2 sabidamente produz um efeito imunossupressor no hospedeiro. Exames hematológicos revelaram uma redução de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e células B, resultando em um quadro de depleção linfóide nos animais doentes (Segales et al., 2001). Os níveis de mRNA de IL-1 $\alpha$  e IL-10 demonstraram estar aumentados nos animais afetados, e níveis de mRNA de IL-2 e IL-2R $\alpha$  (CD25) parecem sofrer uma redução (Sipos et al., 2004). A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina imunossupressiva e diversos estudos demonstraram a relação do PCV2 com a secreção dessa citocina. Darwich et al. (2003) induziu infecção subclínica experimental em suínos e verificou que o pico de IL-10 coincidia com a ocorrência do pico de viremia, demonstrando uma correlação positiva entre a IL-10 e a viremia. Suínos que apresentavam a doença clínica causada pelo PCV2 tinham altos níveis de IL-10 (Stevenson et al., 2006). Kekairenen et al. (2008) também demonstraram que a infecção pelo PCV2 possui uma relação na indução de IL-10 e depleção de linfócitos T. Adicionalmente a depleção de linfócitos causada pelo PCV2 compromete todas as subpopulações de linfócitos T auxiliar, T citotóxico, T $\gamma\delta$ , vírgem, memória, efectoras e linfócitos B (Kekarainen et al., 2010).

### **2.3 Genética do hospedeiro e a ocorrência das PCVAD**

Estudos sobre a relação entre a genética dos suínos e a susceptibilidade e resistência à apresentação das PCVAD tiveram início a partir de observações de

veterinários e proprietários de granja, que suspeitavam existir uma diferença de resistência quanto à apresentação das PCVAD (López-Soria et al, 2005; Rose et al., 2005).

Rose et al. (2005) realizaram um estudo visando investigar uma possível influência da raça Pietrain na redução da ocorrência de PMWS. O estudo foi conduzido em quatro granjas afetadas pela PMWS. Através dos resultados os autores não verificaram nenhuma diferença quanto à maior resistência da raça Pietrain à PMWS. No entanto, contrapondo os resultados obtidos por Rose et al. (2005), López-Soria et al. (2005) obtiveram resultados diferentes quando analisaram o desempenho da raça Pietrain com outras raças, frente à infecção pelo PCV2. Estes autores estudaram a relação entre a genética do rebanho e a redução na mortalidade geral e pós-desmame em duas granjas com diagnóstico prévio de doenças afetadas pelo PCV2. Utilizando 3 linhagens paternas diferentes (A: 100% Pietrain; B: 50% Large White e 50% Pietrain; C: 25% Large White e 25% Duroc) López-Soria et al. (2005) verificaram uma redução significativa da mortalidade pós-desmame quando a linhagem paterna utilizada era da raça Pietrain. Os autores concluíram que existe um efeito genético na ocorrência da PMWS, não podendo afirmar, no entanto, se este efeito é proveniente da raça Pietrain ou da linhagem genética utilizada. Opriesnig et al. (2006), também com o objetivo de pesquisar a existência de uma possível diferença de susceptibilidade entre as várias raças de suínos, realizaram a infecção experimental pelo PCV2 em animais das raças Duroc, Landrace e Large White em uma propriedade na qual não foi detectada a ocorrência de PCVAD. Neste estudo os autores avaliaram o ganho de peso dos animais, temperatura retal, escore de tosse, ocorrência da PMWS, alterações anatomopatológicas e lesões microscópicas através de histopatologia. Neste estudo, Opriesnig et al. (2006) verificaram que, sob condições experimentais, suínos da raça Landrace tinham maior predisposição a doenças e lesões causadas pelo PCV2. Dando continuidade a este estudo, Opriesnig et al. (2009) compararam a susceptibilidade da raça Landrace (considerada mais susceptível pelo estudo anterior) com a Pietrain ao PCV2 sob condições experimentais. O estudo comparou os níveis de imunoglobulina M (IgM), imunoglobulina G (IgG), anticorpos neutralizantes, carga viral, citocinas e lesões em órgãos linfóides nos animais das duas raças. Os autores concluíram que suínos da raça Landrace possuíam maior predisposição de apresentar as lesões associadas às PCVAD que suínos da raça Pietrain. Portanto, os resultados observados neste estudo corroboram com as observações visualizadas à campo.

Os poucos estudos e os resultados conflitantes a respeito da influência genética do suíno na incidência e gravidade das PCVAD demonstram que mais esforços devem ser realizados em estudos sobre este assunto, a fim de obter dados concretos sobre este assunto.

## **2.4 A raça Piau**

A agropecuária mundial tem como preceito o uso intenso de raças e linhagens genéticas de alta produtividade baseada no fato de estas serem mais lucrativas. Este fato ocasionou uma redução da diversidade genética em várias espécies e a redução significativa de genéticas menos produtivas. Todavia, a diversidade genética está intrinsecamente relacionada à eficiência da produção dos animais domésticos (Notter, 1999). Diferentes grupos de pesquisa e órgãos internacionais têm realizado esforços a fim de preservar e melhorar geneticamente as diferentes raças de animais que não foram absorvidas pelos sistemas de produção atuais, algumas sob risco de extinção. Entretanto, apesar de as raças nativas serem inferiores às raças melhoradas em relação a alguns parâmetros zootécnicos, elas podem albergar alelos que definam características importantes para a produção animal como maior resistência a patógenos (Amarante et al., 2009; Amarante et al, 2004; Reiner et al., 2002; Notter, 1999).

No Brasil, todas as raças suínas naturalizadas estão sob risco de extinção (Mariante et. al., 2009). A manutenção dessas raças é fundamental pelo fato de serem adaptadas aos ecossistemas brasileiros e constituírem fontes potenciais de novas variantes genéticas (Sollero et al., 2006).

A raça Piau foi a primeira a ser registrada na Associação Brasileira de Criadores de Suínos, em 1986, e é considerada a principal raça naturalizada de suíno no Brasil (Serão, 2009; Cavalcanti, 1984). Veroneze et al. (2008) comparou a curva de crescimento de animais da raça Piau com animais de uma linhagem comercial (Landrace x Large White x Pietrain) e verificaram que os animais da linhagem comercial apresentaram maior peso nas fases inicial de crescimento e adulta, além de uma maior precocidade em relação aos animais da raça Piau. Apesar de apresentar menor desempenho produtivo em relação às linhagens comerciais, Serão et al. (2011) demonstraram que a raça Piau apresenta maior conteúdo de gordura intramuscular no músculo *Longissimus dorsi*. Estes resultados são explicados pelo fato de a raça Piau não ter passado por um programa de melhoramento genético. Apesar de uma menor

performance produtiva, a raça Piau tem como uma das suas principais características a rusticidade, uma vez que é pouco exigente quanto ao manejo (Sollero, 2006).

### **3.OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

- O presente estudo teve como objetivo verificar possíveis diferenças entre os perfis sorológicos e virêmicos para o PCV2 entre suínos da raça Piau e de uma linhagem comercial (Landrace x Large White x Pietrain) em um rebanho naturalmente infectado em diferentes fases de produção.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Quantificar e comparar os níveis de anticorpos anti-PCV2 entre animais da raça Piau e animais de linhagem comercial nas porcas, nos suínos de 0-3 semanas, 3-8 semanas e 8-22 semanas de idade.
- Quantificar e comparar a viremia do PCV2 entre animais da raça Piau e animais de linhagem comercial nas porcas, nos suínos de 0-3 semanas, 3-8 semanas e 8-22 semanas de idade.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Cálculo de amostragem e coleta de amostras.

Os animais utilizados nesse experimento fazem parte do rebanho da Granja de Melhoramento de Suínos (GMS) do Departamento de Zootecnia da UFV. O rebanho da granja é composto por animais da raça Piau e de uma linhagem comercial (Landrace x Large White x Pietrain). A granja é de ciclo completo, e durante as fases de reprodução, gestação, maternidade e creche os animais da raça Piau e da linhagem comercial são criados em instalações separadas, só havendo contato direto entre os animais a partir das 8-9 semanas, quando são alojados num galpão onde permanecem até o abate.

Durante o período que decorreu o experimento a população de porcas, animais de 0-3 semanas, 3-8 e 8-22 semanas da granja da linhagem comercial eram, respectivamente, 67,135, 153 e 106 animais, enquanto que a população de suínos da raça Piau era de 23, 15, 18 e 57 animais. O cálculo da amostragem foi realizado utilizando programa Epi Info™, versão 3.5.1 (Statcalc calculator – sample size & Power - population survey). Foi considerada uma prevalência de 95% para infecção pelo PCV2 (Barbosa et al., 2008), um erro de 5% e intervalo de confiança de 95%. Considerando o critério de amostragem transversal, a amostragem probabilística para as fases de produção da linhagem comercial e Piau estão demonstradas na Tabela 1.

**Tabela 1.** População de cada raça, porcentual amostrado e quantidade de indivíduos a serem amostrados em cada fase de produção dos dois grupos genéticos. A idade de cada fase é dada em semanas, exceto para as porcas, que é dada em número de partos.

Fase de produção (idade)	População		% da população		Amostragem	
	Comercial	Piau	Comercial	Piau	Comercial	Piau
<b>Porcas (&gt;2)</b>	67	23	15	20	9	9
<b>Maternidade (0-3)</b>	135	15	29	13	18	6
<b>Creche(3-8)</b>	153	18	33	16	21	7
<b>Terminação(8-22)</b>	106	57	23	50	14	22

O sangue foi coletado através da punção da veia jugular. Após a coleta, as amostras foram levadas para laboratório e dessoradas. A partir do soro, foram realizados os testes de ELISA e reação da polimerase em cadeia em tempo real (qPCR).

Todos os procedimentos experimentais envolvendo animais estão de acordo com a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) (em anexo) e foram supervisionados pelo médico veterinário Luiz Henrique Silva Bulos inscrito no CRMV-MG sob N° 13291.

#### **4.2 Determinação do nível de anticorpos totais anti-PCV2 por meio de ELISA indireto.**

O teste de ELISA realizado neste estudo foi padronizado no laboratório. Microplacas de 96 poços (Nunc Immuno 96 MicroWell™ Plates MaxiSorp™) foram sensibilizadas com 100 µL/poço da proteína recombinante do capsídeo (rCap) do PCV-2 (antígeno), a uma concentração de 50µg/mL, diluída em tampão carbonato 0,05M (pH 9,6) durante a noite a 4°C. Após este período, as placas foram lavadas quatro vezes com PBS contendo Tween 20 (PBST - NaCl a 0,9 %; Tween 20 a 0,05 % e fosfato 50 mM; pH 7,4), bloqueadas com 100 µL/poço da solução de bloqueio (BSA a 3% diluído em PBS) por 90 minutos sob agitação à temperatura ambiente e, em seguida, incubadas com 100 µL/poço de amostras de soro diluídas em solução de diluição (PBS contendo BSA a 1%), numa diluição final de 1:400. Cada amostra foi testada em duplicata. Após uma nova lavagem, as placas foram incubadas com 100 µL/poço do anticorpo secundário (anti-IgG de suíno conjugado com peroxidase produzido em coelho, Sigma) na diluição de 1:10.000, e incubados por 90 minutos sob agitação à temperatura ambiente. Posteriormente, as placas foram lavadas novamente e a reação colorimétrica foi realizada utilizando 100 µL/poço da solução que contém o substrato cromogênico [10 mL de tampão citrato fosfato 0,1M; pH 5; 4mg de O.P.D. (o-Phenylenediamine - C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub> a 98%, MW 108,14 - Agros Organics); 5 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30%]. A reação foi incubada por 10 minutos à temperatura ambiente protegida da luz. A reação de desenvolvimento da cor foi paralisada com 50 µL/poço de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,5 M e a presença de anticorpos determinada através da leitura da densidade óptica (D.O.) a 492 nm (D.O.<sub>492nm</sub>) em leitora de microplaca *Thermo Plate* (TP-Reader).

A fim de determinar se os animais eram soronegativos ou soropositivos para o PCV2, foi calculado o *cut-off* para cada microplaca analisada de acordo com a fórmula:  $Cut-off = D.O. \text{ média controle negativo} + 2 * \text{desvio padrão controle negativo}$ .

Uma vez que todos os poços da microplaca foram sensibilizados com o antígeno, os níveis de anticorpos de cada amostra foram determinados de acordo com a fórmula:  $D.O.c = [D.O. \text{ amostra} / (D.O. \text{ controle positivo} - D.O. \text{ controle negativo})]$  (Fort et al., 2007).

### 4.3 Extração do DNA e quantificação da viremia através da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR).

O DNA do PCV2 foi extraído a partir das amostras de soro utilizando o kit Wizard® SV Genomic DNA Purification System (Promega) de acordo com as instruções do fabricante.

A partir do DNA extraído, o número de cópias do PCV2 no soro de cada animal foi determinado utilizando-se os oligonucleotídeos e sonda (Tabela 2) previamente descritos por Olvera et al. (2004). O método utilizado foi o sistema TaqMan, com o uso do kit TaqMan Master Mix (Applied Biosystems) no aparelho ABI Prism 7500 (Applied Biosystems).

**Tabela 2.** Oligonucleotídeos e sonda utilizados na reação de PCR em tempo real (Olvera et al., 2004).

Oligonucleoídeo	Sequência
PCV2R	5'-CCAGGAGGGCGTTGTGACT-3'
PCV2F	5'-CGCTACCGTTGGAGAAGGAA-3'
Sonda	5'TAMRA- AATGGCATCTTCAACACCCGCCTCT- FAM3'

As reações foram realizadas em placas de 96 poços, incluindo amostras e padrões. Um controle negativo utilizando água deionizada autoclavada foi adicionado em cada placa. Cada reação foi constituída de um volume final de 25µL contendo 200nM de cada oligonucleotídeo, 200nM de sonda, 12,5µL Taq Man Master Mix e 5µL do DNA de cada amostra.

A amplificação foi realizada nas seguintes condições: 10 minutos a 95°C, 2 minutos a 50°C, e 40 ciclos de 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60°. Os resultados foram analisados com o *software* 7500 versão 2.0.6. Em cada curva de amplificação, o valor de Ct (*threshold cycle*) foi calculado, representando o número de ciclos da PCR em que o a fluorescência repórter foi detectável. As reações foram realizadas em triplicata e todos os Ct analisados representam a média do Ct de cada amostra.

#### **4.4 Análise estatística.**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o sistema SAEG v.9.1 (2007). As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ . Verificou-se as médias dos níveis de anticorpos entre as fases de produção dentro de uma mesma raça através da análise de variância, com o teste de Duncan. A fim de comparar utilizou-se o teste do qui-quadrado. O qui-quadrado foi utilizado para verificação dos níveis de anticorpos das mesmas fases de produção entre os dois grupos genéticos, e para avaliação da diferença na soroprevalência entre os dois grupos genéticos e entre as diferentes fases de produção do mesmo grupo genético. Para análise a análise estatística da viremia utilizou-se a análise de variância ou o teste de Kruskal-Wallis.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A infecção pelo PCV2 causa grandes prejuízos à suinocultura mundial, tanto na sua forma clínica quanto na sua forma subclínica. A infecção subclínica diminui a eficiência produtiva dos suínos por meio da redução do ganho de peso diário e peso da carcaça, e aumento da conversão alimentar e da frequência de nascimento de leitões de baixo peso (Young et al., 2011). Embora a infecção subclínica seja a forma de infecção mais prevalente na suinocultura mundial, pouco se sabe sobre o perfil imunológico de animais subclínicamente infectados (Beach e Meng, 2012; Darwich et al., 2008).

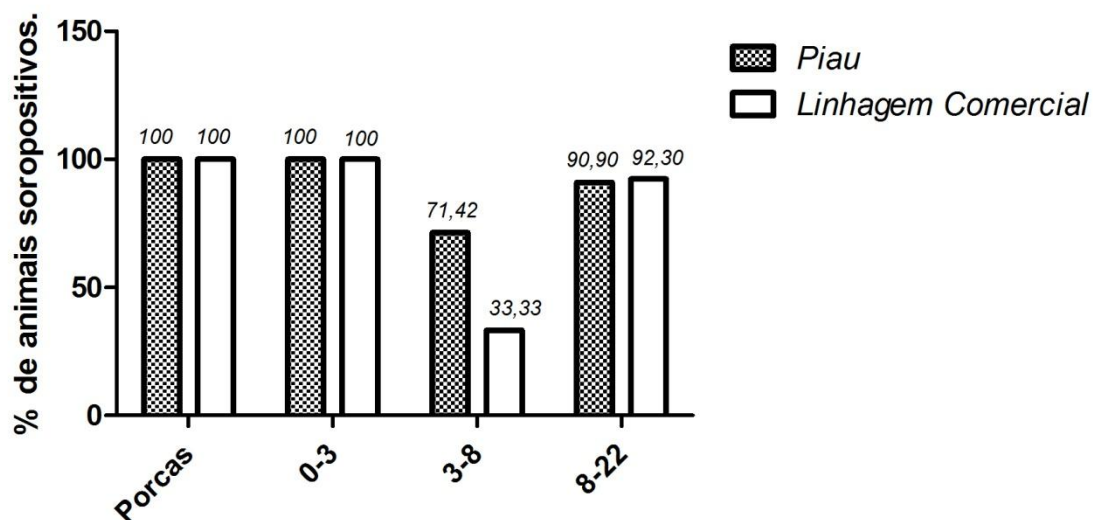
Diversos estudos têm sido realizados no intuito de verificar a influência da genética do suíno no desenvolvimento das PCVAD (Opriesnig et al., 2009; Opriesnig et al., 2006; López-Soria et al., 2005; Rose et al., 2005). Poucos desses estudos se ateram em estudar sobre diferenças na resposta imune das raças, sendo que somente Opriesnig et al. (2006) e Opriesnig et al. (2009) analisaram algum aspecto relacionado à resposta imune. Estes estudos, por sua vez, não verificaram nenhuma diferença quanto aos

aspectos da resposta imune estudados. A raça Piau, por sua vez, possui diferenças fisiológicas significativas em relação às raças e linhagens de alto desempenho produtivo, como uma menor precocidade produtiva, maior síntese e deposição de gordura. As diferenças fisiológicas entre a raça Piau e as linhagens de alta produtividade poderiam, de alguma forma, influenciar no desenvolvimento da resposta imune (Milner e Beck, 2012; Serão et al., 2011; Veroneze et al., 2008).

O objetivo deste estudo foi verificar se existe diferença dos perfis sorológico e virêmico para o PCV2 entre suínos da raça Piau e de uma linhagem comercial (Landrace x Large White x Pietrain) em uma granja subclínicamente infectada pelo PCV2 e cujo rebanho não é vacinado contra este vírus.

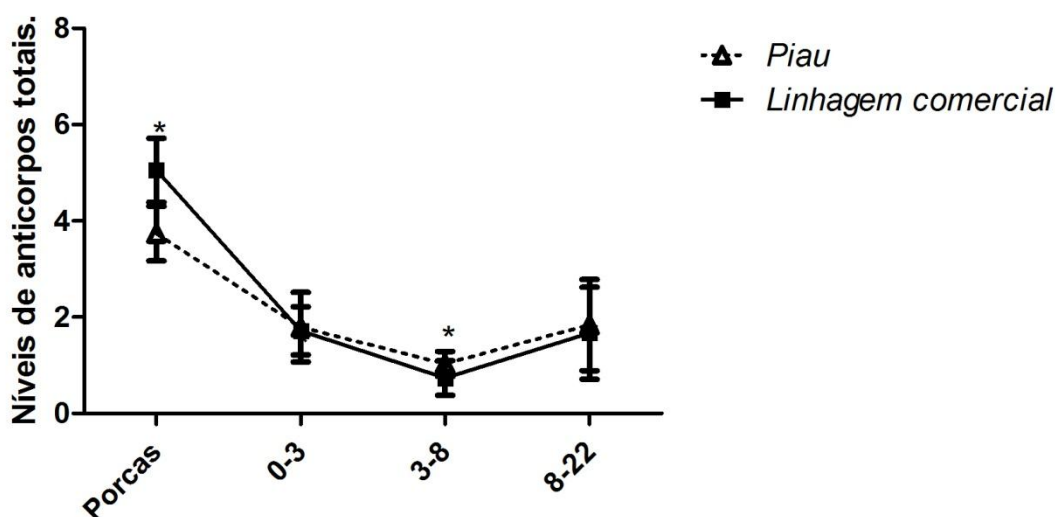
Por meio da técnica de ELISA indireto, determinou-se a porcentagem de animais positivos e a média do nível de anticorpos anti-PCV2 para cada fase de produção entre os dois grupos genéticos, a fim de analisar o perfil sorológico. O percentual de animais soropositivos para o PCV2 está demonstrado na Figura 1. Os perfis sorológicos dos dois grupos genéticos e os níveis de anticorpos referentes a cada fase de produção estão demonstrados na Figura 2.

A Figura 1 demonstra que há uma redução na soroprevalência na idade de 3-8 semanas nos dois grupos genéticos, no entanto a prevalência volta a aumentar nos animais de 8-22 semanas, atingindo mais de 90% do rebanho nos dois grupos estudados. Não houve diferença estatística na soroprevalência quando comparou-se os dois grupos genéticos em cada fase de produção, nem quando analisou-se as diferentes fases de produção dentro do mesmo grupo genético.



**Figura 1:** Percentual de animais soropositivos para o PCV2 em cada fase de produção.

A Figura 2 demonstra que houve diferença estatística no nível de anticorpos entre os dois grupos genéticos nas porcas e nos animais de 3-8 semanas. Neste grupo, os leitões da raça Piau apresentaram níveis de anticorpos superiores ao dos leitões da linhagem comercial ( $P=0,06$ ), enquanto que as porcas de linhagem comercial apresentaram níveis superiores aos da raça Piau ( $P<0,01$ ).



**Figura 2:** Perfil sorológico da raça Piau e da linhagem comercial durante as fases de produção. \*  $P<0,05$ .

Analisando o perfil sorológico de cada grupo genético isoladamente, na raça Piau observou-se diferença nos níveis de anticorpos das porcas em relação aos das demais fases ( $P < 0,05$ ). Na linhagem comercial, por outro lado, além de as porcas terem apresentado os maiores níveis de anticorpos ( $P < 0,05$ ), os leitões de 3-8 semanas apresentaram níveis de anticorpos menores em relação aos níveis das outras fases de produção do respectivo grupo genético ( $P < 0,05$ ).

A soroprevalência para o PCV2 nos leitões de 0-3 semanas foi de 100% (Figura 1), o que era de se esperar, uma vez que os animais dessa fase adquirem anticorpos de origem materna através do colostro. Na fase de 3-8 semanas houve uma redução da soroprevalência para o PCV2 para ambos os grupos genéticos (Figura 1). A redução da soroprevalência nesta fase coincide com a diminuição dos níveis de anticorpos, que são em sua maior parte provenientes da ingestão do colostro (Figura 1 e 2). A partir da fase de 3-8 semanas iniciou-se a soroconversão. Nesse momento existe a tendência dos níveis de anticorpos dos animais aumentarem ao longo do tempo até atingirem um platô. Este comportamento pôde ser observado pelos maiores níveis de anticorpos nos animais de 8-22 semanas de idade, que atinge um pico nas porcas, as quais são mais antigas dentro dos plantéis (Figura 2). Desta forma, pela análise dos resultados sorológicos é possível compreender que o desafio viral acontece nos suínos da fase de 3-8 semanas de idade.

Os resultados demonstraram que, na fase de 3-8 semanas, os leitões da raça Piau apresentaram níveis de anticorpos maiores que os leitões da linhagem comercial ( $P = 0,06$ ). Em um estudo no qual foi realizada uma amostragem transversal e nenhuma das propriedades faziam uso da vacina contra o PCV2, Ge et al. (2012) verificaram a ocorrência da soroconversão precoce nas propriedades na qual a PMWS apresentava-se na forma clínica mais severa.

Gerber et al. (2009), estudando o perfil sorológico anti-PCV2 de granjas de sítio único e sítios múltiplos nas quais não eram realizadas vacinações contra o PCV2, verificaram que a soroconversão acontecia ao redor da 10<sup>a</sup> e 14<sup>a</sup> semana, nas granjas de sítio múltiplos e únicos, respectivamente, explicando este fato pela maior pressão de infecção pelo PCV2 em granjas de sítios múltiplos, em virtude da mistura de animais de várias origens.

Os resultados de Ge et al. (2012) e Gerber et al. (2009) suportam a hipótese de que a raça Piau apresentar uma soroconversão precoce em relação aos leitões da linhagem comercial é um indício de que esta raça tenha uma resposta imune humoral diferente

dos animais da linhagem comercial, uma vez que ambas as raças estão sujeitas à mesma pressão de infecção.

A raça Piau apresentou menor nível de anticorpos que a linhagem comercial quando foi analisado o soro das porcas de gestação ( $P < 0,01$ ). Diversos estudos em humanos e camundongos demonstraram que um maior índice de massa corporal ou obesidade prejudicam a eficiência do sistema imunológico (Calle et al., 1999; Milner e Beck, 2012; Karlsson e Beck, 2010). Nieman et al. (1999) demonstraram que linfócitos T e B de humanos obesos proliferam menos quando estimulados à mitose. Baseado no fato de que indivíduos obesos apresentam pior resposta a vacinas virais e apresentam falha múltipla de órgãos em resposta a doenças virais, O'Shea et al. (2013) compararam células dendríticas de humanos obesos e de não obesos em um estudo de coorte e verificou que as células dendríticas dos obesos apresentam menor expressão de CD83, uma molécula importante na indução da resposta de linfócitos T, sobretudo a patógenos virais. No mesmo trabalho, os autores verificaram que células dendríticas de indivíduos obesos produzem duas vezes mais a citocina imunossupressiva IL-10 que os indivíduos não obesos. Em camundongos com obesidade induzida por dieta observou-se que o sistema imune destes animais apresentava atividade deficiente, como atividade de células *natural killer* reduzida, células dendríticas deficientes quanto ao processamento e apresentação de antígenos e linfócitos TCD8+ com atividade debilitada (Karlson et al., 2010; Smith et al., 2009).

A raça Piau, como todas as raças suínas que não passaram por um programa de melhoramento genético, apresentam maior potencial para sintetizar lipídeos (Serra et al., 1998). Portanto, uma possível explicação para as porcas da raça Piau terem apresentado menor nível de anticorpos que as de linhagem comercial é a maior porcentagem de tecido adiposo em relação aos animais de linhagem comercial.

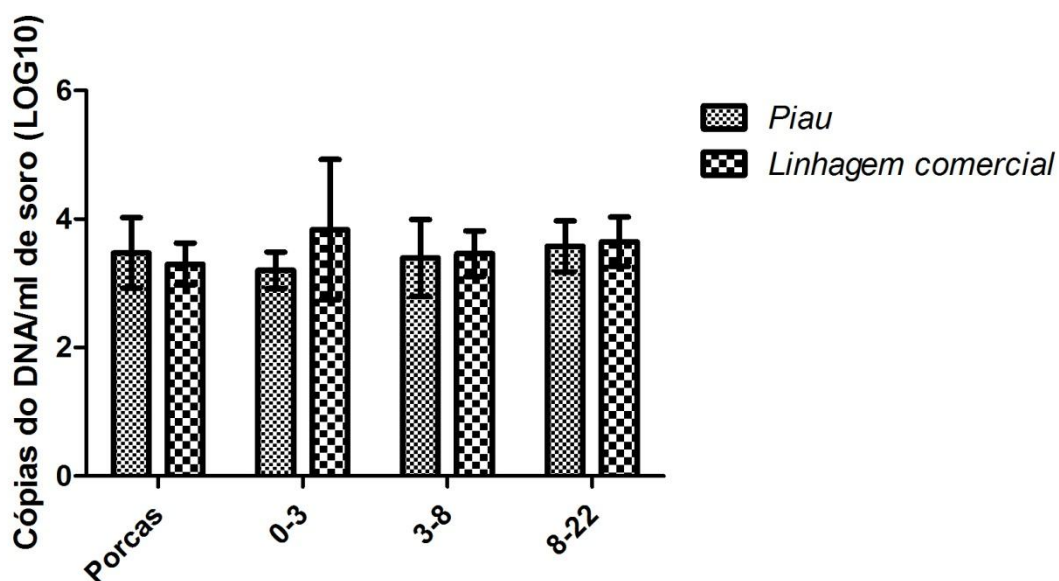
Gerber et al. (2011) demonstraram que há uma correlação positiva entre o título de anticorpos anti-PCV2 no soro das porcas com o título de anticorpos do colostro. Desta forma, uma vez que os níveis de anticorpos das porcas da linhagem comercial são mais altos, os níveis de anticorpos no colostro dessas fêmeas tendem a ser maiores, e consequentemente, nos leitões de 0-3 semanas de idade da linhagem comercial também tenderiam ser maiores que os encontrados na raça Piau. Uma provável explicação para ter-se encontrado os mesmos níveis de anticorpos em leitões Piau e comercial é a falha na ingestão do colostro pelos leitões. Apesar de este manejo ser realizado rigorosamente

nas primeiras 24 horas de vida para todos os leitões da granja, essa possibilidade não pode ser totalmente descartada.

Não foi observada diferença nos níveis de anticorpos entre as raças na fase de 8-22 semanas ( $P>0,05$ ). Kolstad (2001) acompanhou a deposição de gordura na raça Landrace, Duroc e em animais cruzados Landrace norueguês com animais de alta espessura de toucinho. Neste estudo o autor verificou que não havia diferença na quantidade de gordura depositada entre as três raças no momento do desmame, no entanto, a partir dos 50 kg de peso vivo até o momento do abate os animais cruzados apresentaram maiores quantidade de gordura. No presente estudo os animais a partir dos 60 dias de idade (peso médio da linhagem comercial 21,30kg e 14,64 da raça Piau) até o momento do abate foram incluídos na mesma fase, a influência do excesso de tecido adiposo na redução da eficiência do sistema imune nos animais mais pesados pode ter sido mascarada pela presença de animais mais novos e com menor quantidade de tecido adiposo nesse grupo.

As amostras de soro também foram utilizadas para quantificação do número de cópias do DNA do PCV2 por meio da técnica de qPCR e determinação do perfil virêmico de cada raça.

A Figura 3 demonstra a viremia de cada fase de produção para os dois grupos comparados. Não foi observada diferença quando comparou-se a viremia das raça Piau e linhagem comercial para cada fase produção, assim como não houve diferença quando foi comparada a carga viral entre as fases de produção de cada grupo isoladamente ( $P>0,05$ ).



**Figura 3:** Comparação da viremia dos dois grupos genéticos em cada fase de produção.

A partir destes resultados sugere-se que a circulação do vírus na granja é a mesma em todas as fases de produção. Uma possível explicação para o fato é o baixo desafio presente na granja, o que pode ter mantido o vírus em níveis basais em todas as fases de produção.

Alguns estudos demonstraram que há uma correlação entre o título de anticorpos anti-PCV2 com a carga viral no soro de animais com PMWS (Fort et al., 2007; Carasova et al., 2007). Espera-se este padrão de associação uma vez que a variação dos níveis de anticorpos ocorre em virtude da variação da replicação viral. No entanto este comportamento não foi observado neste trabalho. Uma justificativa possível para este resultado é a baixa circulação viral dentro do rebanho, uma vez que não há evidências da doença clínica.

Sousa et al. (2011) reforçam a possibilidade da existência de uma resposta imune diferenciada de animais da raça Piau a patógenos. Estes autores demonstraram que antes de serem vacinados contra o *M. hyopneumoniae* os leitões de ambas as raças apresentavam níveis de expressão semelhantes de “toll like receptor 6” (TLR6), no entanto, após a vacinação, os níveis de expressão do gene do TLR6 mantiveram-se estáveis para os leitões Piau, enquanto que houve um aumento significativo nos leitões da linhagem comercial. Deve ser considerado que o sistema imune é influenciado por diversos tecidos e sistemas do organismo. Portanto mais estudos sobre a fisiologia dessa raça devem ser realizados com o intuito de entender melhor o por que desses indivíduos apresentarem uma resposta imune diferenciada.

As metodologias adotadas em outros estudos para verificar diferença de susceptibilidade da infecção pelo PCV2 não seriam possíveis de serem aplicadas neste estudo, uma vez que estas são baseadas em diferenças observadas na ocorrência da doença clínica. A forma tradicional para avaliação da diferença de susceptibilidade em infecções subclínicas pelo PCV2 baseia-se em parâmetros produtivos (Young et al., 2011). No entanto, a diferença de produtividade entre a raça Piau e as linhagens comerciais tornaria essa metodologia inviável (Veroneze et al., 2008). A elaboração do perfil sorológico possibilita verificar qual momento o rebanho é infectado pelo PCV2 e determinar o momento ideal para vacinação (Gerber et al., 2009; Opriesnig et al., 2007). O presente trabalho demonstra que a avaliação do perfil sorológico foi a metodologia

mais adequada para avaliação da resposta de dois grupos genéticos diferentes à infecção pelo PCV2 sob condições subclínicas.

O presente estudo demonstra que a raça Piau possivelmente possui uma resposta imune humoral diferente da apresentada pelos animais da linhagem comercial diante da infecção pelo PCV2, uma vez que, as porcas dessa raça apresentaram menores níveis de anticorpos em relação às de linhagem comercial.

Em relação às diferenças sorológicas verificadas nas porcas, uma possível explicação pode estar relacionada a maior quantidade de tecido adiposo nas porcas da raça Piau. A soroconversão mais precoce dos leitões na fase de 3-8 semanas pode ser explicada pela maior susceptibilidade dos suínos da raça Piau quando comparado ao grupo linhagem comercial. Este estudo forneceu importantes informações a respeito da infecção subclínica em animais naturalmente infectados, quando a maioria dos estudos que tratam da infecção subclínica utilizam animais infectados experimentalmente.

## **6. CONCLUSÕES**

- A sorologia demonstrou que a infecção ocorre de forma endêmica na granja estudada.
- A soroconversão nos leitões da raça Piau ocorre mais precocemente em relação aos leitões da linhagem comercial.
- As porcas da raça Piau apresentam menores níveis de anticorpos que as porcas da linhagem comercial.
- Não foi observado diferenças na viremia entre as fases de produção e entre os dois grupos genéticos

## **7. PERSPECTIVAS**

Os resultados obtidos neste estudo reforçam ainda mais a importância da conservação de raças nativas que não foram utilizadas para formação de linhagens de alta produtividade, pois, apesar de serem inferiores em relação a alguns parâmetros zootécnicos, elas podem albergar alelos que definam características importantes, como parece ser o caso da raça Piau mostra-se como um modelo interessante para estudo da resposta imune e da influência do tecido adiposo no funcionamento do sistema imune.

Mais estudos devem ser realizados a respeito da resposta imune e da fisiologia dessa raça.

## 8. REFERÊNCIAS

Allan, G. M., Mcneilly, F., Cassdy, J. P., Reilly, G. A., Adair, B., Ellis, W. A., McNulty, M. S. 1995. Pathogenesis of porcine circovirus experimental infections of colostrum deprived piglets and examination of pig foetal material. *Veterinary Microbiology*. v.44, p.49-64.

Allan, G. M., Kennedy, S., Mcneilly, F., Foster, J. C., Ellis, J. A., Krakowka, S. J., Meehan, B. M., Adair, B. M. 1999. Experimental reproduction of severe wasting disease and death by co-infection of pigs with PCV2 and PPV. *Journal of Comparative Pathology*. v.121, p.1-11.

Amarante, A.F.T., Susin, I., Rocha, R.A., Silva, M.B., Mendes, C.Q., Pires, A.V. Resistance of Santa Inês and crossbred ewes to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. 2009. *Veterinary Parasitology*, v.165, n.3-4, p. 273-280.

Amarante, A.F.T., Bricarello, P.A., Rocha, R.A., Gennari, S.M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. 2004. *Veterinary Parasitology*, v.120, n.1-2, p.91-106.

Balmelli, C.; Steiner, E.; Moulin, H.; Peduto, N.; Herrmann, B.; Summerfield, A.; McCullough, K. 2011. Porcine circovirus type 2 DNA influences cytoskeleton rearrangements in plasmacytoid and monocyte-derived dendritic cells. *Immunology*. v.132, p.57-65.

Barbosa, C.N., Lobato, Z.I.P., Martins, N.R.S., Nascimento, E.F. 2008. Perfil sorológico para circovírus suíno tipo 2 em granjas comerciais de suínos no Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.4, 815-820.

- Beach, N. M.; Meng, X. J. 2012. Efficacy and future prospects of commercially available and experimental vaccines against porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Research*. v.164, n.1-2, p.33-42.
- Bolin, S. R., Stoffregen, W. C., Nayar, G. P. S., Hamel, A. L. 2001. Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome Induced after Experimental Inoculation of Cesarean-Derived, Colostrum-Deprived Piglets with Type 2 Porcine Circovirus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. v.13, n.3, p.185-194.
- Carasova, P., Celer, V., Takacova, K., Trundova, M., Molinkova, D., Lobova, D., Smola, J. 2007. The levels of PCV2 specific antibodies and viremia in pigs. *Research Veterinary Science*, v.83, p.274-278.
- Cavalcanti, S.S. *Produção de suínos*. Campinas, SP: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1984. 453p.
- Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CW. 1999. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *The New England Journal of Medicine*; v. 341, n. 15 :1097–105.
- Choi, C., Chae, C., 2001, Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephrology syndrome by double-labeling technique. *Vet Pathol* v.38, p.436-441.
- Darwich, L., Segalés, J., Resendes, A., Balasch, M., Plana-Durán, J., Mateu, E, 2008. Transient correlation between viremia levels and IL-10 expression in pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2 (PCV2). *Research in Veterinary Science* v.84, p.194–198.
- Darwich, L.; Pie, S.; Rovira, A.; Segalés, J.; Domingo, M.; Oswald, I. P.; Mateu, E. 2003. Cytokine mRNA expression profiles in lymphoid tissues of pigs naturally affected by postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of General Virology*. v.84, p.2117-2125.
- Ellis, J., Hassard, L., Clark, E., Harding, J., Allan, G., Willson, P., Strokappe, J., Martin, K., McNeilly, F., Meehan, B., Todd, D., Haines, D., 1998, Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *The Canadian Veterinary Journal* v.39, p.44-51.
- Fort, M., Olvera, A., Sibila, M., Segalés, J., Mateu, E. 2007. Detection of neutralizing antibody in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)- affected and non-PMWS-affected pigs. *Veterinary Microbiology*, v.125, p.244-255.
- Fort, M., Fernandes, L.T., Nofrarias, M., Diaz, I., Sibila, M., Pujols, J., Mateu, E., Segalés, J. 2009. Development of cell-mediated immunity to porcine

circovirus type 2 (PCV2) in Caesarean-derived, colostrum-deprived piglets. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.129, pp. 101-107.

Ge, M., Luo, W., Jiang, D., Li, R., Zhao, W., Chen, G., Yang, X., Yu, X. 2012. Development and application of a double-antigen sandwich enzyme-linked immunoabsorbent assay for detection of antibodies to Porcine Circovirus 2. *Clinical and Vaccine Immunology*, v.19, n.9, 1480-1486.

Gerber, P.F., Garrocho, F.M., Lana, A.M.Q., Lobato, Z.I.P. 2011. Serum antibodies and shedding of porcine circovirus 2 into colostrum and milk of vaccinated and unvaccinated naturally infected sows. *The Veterinary Journal*, v.188, p.240-242.

Girard, C., Morin, M., Elazhary, Y. 1992. Experimentally induced porcine proliferative and necrotizing pneumonia. *Vet. Rec* v.130, p.206-207.

Grau-Roma, L., Fraile, L., Segalés, J., 2011. Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2. *The Veterinary Journal*, v.187, n.1, p.23-32.

Grau-Roma, L., Hjulsager, C.K., Sibila, M., Kristensen, C.S., Lopez-Soria, S., Enoe, C., Casal, J., Botner, A., Nofrarias, M., Bille-Hansen, V., Fraile, L., Baekbo, P., Segales, J., Larsen, L.E. 2009. Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Veterinary Microbiology*. v.135, n.3-4, p.272-282.

Grave, K., Jensen, V.F., Odensvik, K., Wierup, M., Bangen M. 2006. Usage of veterinary therapeutic antimicrobials in Denmark, Norway and Sweden following termination of antimicrobial growth promoter use. *Preventive Veterinary Medicine*, v.75, n.1-2, p.123-132.

Josephson, G., Charbonneau, G. 2001. Case report of reproductive problems in a new startup operation. *Journal of Swine Health and Production* v.9, p.258-259.

Karlsson, E.A.; Beck, M.A. 2010. The burden of obesity on infectious disease. *Experimental Biology and Medicine*, v.235, p.1412-1424.

Karlsson EA, Sheridan PA & Beck MA (2010) Diet-induced obesity impairs the T cell memory response to influenza virus infection. *The Journal of Immunology*, v.184, p.3127-3133.

Kekarainen, T.; McCullough, K.; Fort, M.; Fossum, C.; Segalés, J.; Alllan G. M. 2010. Immune responses and vaccine-induced immunity against Porcine circovirus type 2. *Veterinary Immunology and Immunopathology* v.136, n.3-4, p.185-93.

- Kennedy, S. D., 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 parvovirus. *Journal of Comparative Pathology*. v.122, p.9-24.
- Kim, J., Ha, Y., Jung, K., Choi, C., Chae, C. 2004. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can J Vet Res* v.68, p.218–221.
- Kim, J., Jung, K., Chae, C. 2004. Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. *Vet Rec* v.155, p.489-492.
- Kolstad, K. 2001. Fat deposition and distribution measured by computer tomography in three genetic groups of pigs. *Livestock Production Science*, v.67, n.3, p.281-292.
- Ladekjaer-Mikkelsen, A.S., Nielsen, J., Storgaard, T., Botner, A., Allan, G., McNeilly, F. 2001. Transplacental infection with PCV-2 associated with reproductive failure in a gilt. *Vet Rec* v.148, p.759-760.
- López-Soria, S.; Nofrías, M.; Calsamiglia, M.; Espinal, A.; Valero, O.; Ramírez-Mendonza, H.; Mínguez, A.; Serrano, J.M.; Marín, O.; Callén, A.; Segalés, J. 2011. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) clinical expression under field conditions is modulated by the pig genetic background. *Veterinary Microbiology*, v.149, n.3-4, p.352-357.
- Madec, F., Rose, N., Grasland, B., Cariolet, R., Jestin, A. 2008. Post-Weaning Multisystemic Wasting Syndrome and Other PCV2-Related Problems in Pigs: a 12-Year Experience. *Transboundary Emerging Diseases*, v.55, p.273-283.
- Mariante, A.S., Albuquerque, M.S.M., Egito, A.A., McManus, C., Lopes, M.A., Paiva, S.R. 2009. Present status of the conservation of livestock genetic resources in Brazil. *Livestock Science*, v.120, p.204-212.
- Meerts, P., Misinzo, G., Lefebvre, D., Nielsen, J., Botner, A., Kristensen, C.S., Nauwynck, H.J. 2006. Correlation between the presence of neutralizing antibodies against porcine circovirus 2 (PCV2) and protection against replication of the virus and development of PCV2-associated disease. *BMC Veterinary Research*, v.2, p.6.
- Milner, J.J.; Beck, M.A. 2012. Micronutrients, immunology and inflammation. The impact of obesity on the immune response to infection. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.71, p.298–306.
- Morin, M., Girard, C., Elazhary, Y., Fajardo, R., Drolet, R., Lagacé, A. 1990. Severe proliferative and necrotizing pneumonia in pigs: a newly recognized disease. *Can. Vet. J* v.31, p.837-839.

- Nauwynck, H. J.; Sanchez, R.; Meerts, P.; Lefebvre, D. J.; Saha, D.; Huang, L.; Misinzo, G. 2012. Cell tropism and entry of porcine circovirus 2. *Virus Research*. v.164, p.43-45.
- Nieman, D.C.; Henson, D.A.; Nehlsen-Cannarella, S.L.; Ekkens, M.; Utter, A.C.; Butterworth, D.E.; Fagoaga, O.R. 1999. Influence of obesity on immune function. *Journal of American Dietetic Association*, v.99, p.294–299.
- Notter, D.R. 1999. The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. *Journal of Animal Science*, v.77, p.61-69.
- O'Connor, B., Gauvreau, H., West, K., Bogdan, J., Ayroud, M., Clark, E.G., Konoby, C., Allan, G., Ellis, J.A. 2001. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *Can Vet J* v.42, p.551-553.
- Olvera, A.; Sibila, M.; Calsamiglia, M.; Segalés, J.; Domingo, M. 2004. Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *Journal of Virological Methods*. v.117, p.75-80.
- Opriessnig, T., Fenaux, M., Thomas, P., Hoogland, M.J., Rothschild, M.F., Meng, X.J., Halbur, P.G. 2006. Evidence of Breed-dependent Differences in Susceptibility to Porcine Circovirus Type-2-associated Disease and Lesions. *Veterinary Pathology*, v.43, p.281-293.
- Opriessnig, T., Meng, X., Halbur, P.G., 2007. Porcine circovirus type 2-associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *Journal of Veterinary Diagnosis Investigation*, v.19, p.591–615.
- Opriessnig, T., Patterson, A. R., Madson, D. M., Pal, N., Rothschild, M., Kuhar, D., Lunney, J. K., Juhan, N. M., Meng, X. J., Halbur, P. G. 2009. Difference in severity of porcine circovirus type two-induced pathological lesions between Landrace and Pietrain pigs. *Journal of Animal Science*, v.87, p.1582-1590.
- O'Shea, D., Corrigan, M., Dunne, M.R., Jackson, R., Woods, C., Gaoatswe, G., Moynagh, P.N., O'Connell, J. and Hogan, A.E. 2013. Changes in human dendritic cell number and function in severe obesity may contribute to increased susceptibility to viral infection. *International Journal of Obesity*, In Press. doi: 10.1038/ijo.2013.16.
- Pereira, J.C.C. *Melhoramento genético aplicado à produção animal*, 4 ed., Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 2004.

Pesch, S., Schmidt, U., Ohlinger, V.F. 2000. Proliferative necrotizing pneumonia (PNP) is a result of coinfection with porcine reproductive and respiratory disease virus (PRRSV) and porcine circovirus type 2 (PCV2). Proceedings of the 16th International Congress on Pigs Veterinary Society, 581.

Pérez-Martín, E.; Rovira, A.; Calsamiglia, M.; Mankertz, A.; Rodriguez, F.; Segalés, J. 2007. A new method to identify cell types that support porcine circovirus type 2 replication in formalin-fixed, paraffinembedded swine tissues. Journal of Virological Methods. v.146, p.86-95.

Reiner, G.; Eckert, J.; Peischl, T.; Bochert, S.; Ja`kel, T.; Mackenstedt, U.; Joachim, A.; Dauschies, A.; Gelder-mann, H. 2002. Variation in clinical and parasitological traits in Pietrain and Meishan pigsinfected with *Sarcocystis miescheriana*. Vet. Parasitol. v.106, p.99–113.

Rose, N., Abhervé-Guéguen, A., Le Diguerher, G., Eveno, E., Jolly, J.P., Blanchard, P., Oger, A., Jestin, A., Madec, F. 2005. Effect of the Pietrain breed used as terminal boar on Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in the offspring in four PMWS-affected farms. Livestock Production Science, v.95, p.177-186.

S.A.E.G. (Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2007 (Versão 9.1).

Segales, J., Alonso, F., Rosell, C., Pastor, J., Chianini, F., Campos, E., Lopez-Fuertes, L., Quintana, J., Rodriguez-Arriola, G., Calsamiglia, M., Pujols, J., Dominguez, J., Domingo, M. 2001. Changes in peripheral blood leukocyte populations in pigs with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). Vet Immunol Immunopathol 81, 37-44.

Segalés, J., Domingo, M., Chianini, F., Majó, N., Domínguez, J., Darwich, L., Mateu, E. 2004. Immunossuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. Veterinary Microbiology, v.98, p.151-158.

Segalés, J., Calsamiglia, M., Olvera, A., Sibila, M., Badiella, L., Domingo, M. 2005. Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in serum and tonsillar, nasal, tracheo-bronchial, urinary and faecal swabs of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). Veterinary Microbiology, v.111, p.223–229.

Serão, N.V. 2009. Association of candidate gene expression with intramuscular fat content in the porcine *Longissimus dorsi* muscle. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Viçosa.

Serão, N.V.; Veroneze, R.; Ribeiro, A.M.F.; Verardo, L.L.; Braccini Neto, J.; Gasparino, E.; Campos, C.F.; Lopes, P.S.; Guimarães, S.E.F. 2011. Candidate gene expression and intramuscular fat content in pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v.128, p.28-34.

Serra, X., Gil, F., Pérez-Enciso, M., Oliver, M.A., Vázquez, J.M., Gisper, M., Daz, I., Moreno, F., Latorre, R., Noguera, J.L. 1998. A comparison of carcass, meat quality and histochemical characteristics of Iberian (Guadyerbas line) and Landrace pigs. *Livestock Production Science*, v.56, p.215–223.

Silva, F.M.F., Silva Júnior, A., Vidigal, P.M.P., Oliveira, C.R., Viana, V.W., Silva, C.H.O., Vargas, M.I., Fietto, J.L.R., Almeida, M.R. 2011. Porcine Circovirus-2 Viral Load versus Lesions in Pigs: Perspectives for Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome. *Journal of Comparative Pathology*, v.144: p.296- 302.

Sipos, W., Duvigneau, J.C., Willheim, M., Schilcher, F., Hartl, R.T., Hofbauer, G., Exel, B., Pietschmann, P., Schmoll, F. 2004. Systemic cytokine profile in feeder pigs suffering from natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) as determined by semiquantitative RT-PCR and flow cytometric intracellular cytokine detection. *Vet Immunol Immunopathol* 99, 63-71.

Smith, W.J., Thomson, J.R., Done, S., 1993, Dermatitis/nephropathy syndrome of pigs. *Veterinary Record* v.132, p.47.

Smith, A.G., Sheridan, P.A., Tseng, R.J., Sheridan, J.F., Beck, M.A. 2009. Selective impairment in dendritic cell function and altered antigenspecific CD8T-cell responses in diet-induced obese mice infected with influenza virus. *Immunology*, v.126, p.268–279.

Sollero, B.P. 2006. Diversidade genética das raças naturalizadas de suínos no Brasil por meio de marcadores microssatélites. *Dissertação de mestrado*. Universidade de Brasília.

Sollero, B.P. et al. Estrutura genética de cinco raças naturalizadas e comerciais de suínos do Brasil, João Pessoa, PB, 2006. In: 43ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, João Pessoa, PB. Anais... João Pessoa, 2006.

Sousa, K.R.S., Ribeiro, A.M.F., Goes, P.R.N., Guimarães, S.E.F., Lopes, P.S., Veroneze, R., Gasparino, E. 2011. Toll-Like Receptor 6 differential expression in two pig genetic groups vaccinated against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *BMC Proceedings*, 5(Suppl 4):S9.

Stevenson, L. S.; McCullough, K.; Vincent, I., Gilpin, D.F.; Summerfield, A.; Nielsen, J.; McNeilly, F.; Adair, B. M.; Allan, G. 2006. M. Cytokine and C-

reactive protein profiles induced by porcine circovirus type 2 experimental infection in 3-weekold piglets. *Viral Immunology*. v.19, p.189-195.

Thibault, S., Drolet, R., Germain, M.C., D-Allaire, S., Larochelle, R., Magar, R., 1998, Cutaneous and systemic necrotizing vasculitis in swine. *Veterinary Pathology* v.35, p.108-116.

Tischer, I., Gelderblom, H., Vettermann, W., Koch, M. A. 1982. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature*. V.295, p.64-66.

Tomás, A., Fernandes, L.T., Sánchez, A., Segalés, J., 2010. Time course differential gene expression in response to porcine circovirus type 2 subclinical infection. *Veterinary Research*, p.41-12.

Veroneze, R., Lopes, M.S., Yamaki, M., Serão, N.V.L., Lopes, P.S., Guimarães, S.E.F., Silva, P.V., Pinto, A.P.G., Torres, R.A. 2008. Estudo da curva de crescimento entre suínos de uma linhagem comercial e da raça Piau. VII Simpósio Brasileiro de Genética Animal. São Carlos, São Paulo.

Vincent, I. E.; Carrasco, C. P.; Herrmann, B.; Meehan, B.; Allan, G. 2003 Dendritic cells harbour infectious PCV2 in the absence of apparent modulation of the cells or replication of the virus. *Journal of Virology*. v.77, p.13288–13300.

Wellenberg, G.J., Bouwkamp, F.T., Wolf, P.J.v.d., Swart, W.A.J.M., Mombarg, M.J., de Gee, A.L.W.2010. A study on the severity and relevance of porcine circovirus type 2 infections in Dutch fattening pigs with respiratory diseases. *Veterinary Microbiology* v.142, p.217-224.

West, K.H., Bystrom, J.M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobson, M., Allan, G.M., Haines, D.M., Clark, E.G., Krakowka, S., McNeilly, F., Konoby, C., Martin, K., Ellis, J.A., 1999, Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *J Vet Diagn Invest* v.11, p.530-532.

Young, M.G., Cunningham, G.L., Sanford, S.E., 2011. Circovirus vaccination in pigs with subclinical porcine circovirus type 2 infection complicated by ileitis. *Journal of Swine Health and Production*. v.19, n.3, p.175-180.

## **ANEXOS**

## CERTIFICADO

A Comissão de Ética para Uso de Animais - CEUA/UFV certifica que o processo n.º 27/2013, intitulado “*Perfil sorológico e virêmico de suínos da raça piau e linhagem comercial naturalmente infectados com o Porcine Circovírus 2*”, coordenado pelo professor Abelardo Silva Júnior, do Departamento de Veterinária, está de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em 25/04/2013, com validade de 12 meses.

## CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 27/2013, named “*Serologic and viremic profile of piau breed and commercial line naturally infected with Porcine circovirus 2*” is in agreement with the Medical Veterinary Professional Ethics Code, with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian Society of Science in Laboratory Animals (SBCAL) and with actual Brazilian legislation. This Institutional Commission on April 25, 2013 approved this process. This certificate expire in 12 months.



Prof. Cláudio César Fonseca  
Coordenador

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV