

JOÃO NUNO AMARO DE OLIVEIRA VIEIRA

**Circovírus tipo 2:
Estudo Vacinal Comparativo**

Orientadora: Professora Doutora Sofia van Harten

Orientador externo: Dr. Diogo Gonçalves

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2023

JOÃO NUNO AMARO DE OLIVEIRA VIEIRA

**Circovírus tipo 2:
Estudo Vacinal Comparativo**

Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa, no dia 14/09/2023, perante o júri nomeado pelo Despacho de Nomeação n.º: 325/2023, de vinte e cinco de Julho, com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Cátia Marques, por delegação da Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professora Doutora Mariana Batista

Orientadora: Professora Doutora Sofia van Harten

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2023

Resumo

O Circovírus porcino tipo 2 (PCV2), é um dos mais importantes agentes patogénicos emergentes que afecta a criação suína a nível mundial. A infeção por este vírus está associada a doenças, destacando-se a Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS). Esta é a mais habitual e a que provoca mais perdas económicas. A prevenção passa pelas medidas de biossegurança e vacinação, factor muito importante para conferir uma protecção elevada contra o PCV2.

Este trabalho foi realizado na empresa Raporal S.A., em duas explorações de suinicultura. O estudo realizado incidiu sobre a comparação de duas vacinas (de laboratórios diferentes), cada uma administrada a um grupo distinto de 750 leitões após o desmame. Os objectivos incluíram a verificação da existência de diferenças entre os dois grupos de suínos relativamente aos parâmetros zootécnicos e imunológicos. Avaliou-se também a existência de doenças oportunistas e a existência de lesões em pulmões e corações após o abate.

Os índices produtivos dos animais revelaram-se muito homogéneos nos dois grupos. No despiste de antígenos e anticorpos dos agentes PCV2 e porcine reproductive and respiratory syndrome vírus, verificou-se que ambos os grupos estavam com os valores dentro da normalidade, não apresentando sinais de doença. Na avaliação dos pulmões e corações para verificação da existência de lesões características de agentes patogénicos secundários, foi possível determinar que os animais não apresentavam lesões, com índices muito baixos de lesão em todas as avaliações.

Palavras-chave: PCV2, suínos, ensaio experimental, vacinação, índices zootécnicos

Abstract

Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) is one of the most important emerging pathogens affecting swine farming worldwide. Infection with this virus is associated with the Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS). This is the most common and the one that causes the most economic losses. In addition to biosafety measures, vaccination is a very important factor in giving animals high protection against PCV2.

This work was carried out at Raporal S.A., in two swine farms. The study focused on the comparison of two vaccines (from different laboratories), each administered to a distinct group of 750 piglets after weaning. The objectives included verifying the existence of differences between the two groups of pigs in relation to zootechnical and immunological parameters. The existence of opportunistic diseases and the existence of lesions in lungs and hearts were also evaluated.

The productive indexes of the animals proved to be very homogeneous in both groups. While screening for PCV2 and reproductive porcine and respiratory syndrome virus agents, it was found that both groups had the values within the normal range, showing no signs of disease. In the lung and heart assessment to verify the existence of characteristic lesions of secondary pathogens, it was possible to determine that the animals had good lung health, with very low value lesions in all evaluations.

Keywords: PCV2, pigs, experimental trial, vaccination, zootechnical indices

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

APP – *Actinobacillus pleuropneumoniae*

APPI – Índice *Actinobacillus pleuropneumoniae*

DNA – Ácido desoxirribonucleico (Deoxyribonucleic acid)

ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática (Enzyme-linked immunosorbent assay)

GMD – Ganho médio diário

IC Económico – Índice de conversão económico

IC Zootécnico – Índice de conversão zootécnico

IFN- γ – Interferon gama

IL-1 β – Interleucina 1 beta (Interleukin 1 beta)

IPP – Índice para pneumonia

Mhyo – *Mycoplasma hyopneumoniae*

NF-kB – Factor nuclear kappa B (Nuclear factor kappa B)

ORF – Fase de leitura aberta (Open Reading Frame)

PCV2 – Circovírus porcino tipo 2 (Porcine circovirus type 2)

PCVADs – Doenças associadas ao circovírus porcino (Porcine circovirus associated disease)

PDNS – Síndrome de nefropatia e dermatite suína (Porcine dermatitis and nephropathy syndrome)

PMWS – Síndrome de deficiência de crescimento pós-desmame (Porcine multi-systemic wasting syndrome)

PNP – Pneumonia proliferativa e necrotizante (Proliferative necrotizing pneumonia)

PPV – Parvovírus porcino (Porcine parvovirus)

PRRSV – Vírus da síndrome reprodutiva e respiratória suína (porcine reproductive and respiratory syndrome vírus)

qPCR - Reação quantitativa em cadeia de polimerase (Quantitative polymerase chain reaction)

ssDNA – Single stranded DNA

TNF- α - Fatores de Necrose Tumoral Alfa (Tumour Necrosis Factor alpha)

Índice Geral

Resumo.....	2
Abstract.....	3
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos.....	4
Índice Geral.....	5
Índice de Tabelas.....	7
Índice de Figuras.....	8
Índice de Gráficos.....	10
1 CASUÍSTICA DO ESTÁGIO CURRICULAR.....	11
1.1. Descrição das atividades desenvolvidas	11
1.2. Dados da casuística.....	14
2. Introdução.....	15
2.1. Porcine Circovirus type 2 (PCV2)	15
2.1.1. Estrutura e organização genómica	16
2.1.2. Infecção e replicação viral	17
2.1.3. Patogénese	19
2.1.3.1. Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS).....	20
2.1.3.2. Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS)	23
2.1.3.3. Reproductive disease (PCV2-RD)	24
2.1.3.4. Proliferative and necrotizing pneumonia (PNP)	25
2.1.3.5. PCV2-associated enteritis (PCV2-ED)	26
2.1.4. Interação do PCV2 com o sistema imunitário	27
2.1.5. Infecções secundárias ou coinfeções	28
2.1.6. Vacinação contra o PCV2	30
3. Objetivos do trabalho.....	32
4. Materiais e métodos	33
4.1. Descrição da exploração	33
4.1.2. Animais e tratamento experimental	33
4.1.3. Amostras	34
5. Resultados	35
5.1. Análise de tecidos post-mortem.....	36
5.2. Estudo comparativo na exploração	38
5.2.1. Fase de engorda.....	39

6. Discussão de Resultados.....	46
7. Conclusão.....	50
8. Refências Bibliográficas.....	51
ANEXOS	69
Anexo A – Tabelas citadas no trabalho	69

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Escala classificativa do índice para pneumonia (IPP)	37
Tabela 2 – IPPs obtidos nas duas avaliações efetuadas a animais vacinados com Circoflex e Porcilis PCV.	37
Tabela 3 – Comparação de pesos médios, totais e taxa de mortalidade de dois grupos de suínos administrados com Porcilis PCV (n=1100) ou Circoflex (n=1099) durante a fase de recria	38
Tabela 4 – Causas da mortalidade inesperada durante a fase de recria em animais vacinados com Porcilis PCV (A) ou Circoflex (B)	39
Tabela 5 – Resultados de qPCR relativos à presença de PCV2 em grupos de animais vacinados com Porcilis PCV ou Circoflex ao longo de 9 semanas.....	41
Tabela 6 – Comparação do GMD, índices de conversão, rendimento e taxa de mortalidade de dois grupos de suínos administrados com Porcilis PCV ou Circoflex durante a fase de engorda	42
Tabela 7 – Causas de mortalidade inesperada durante a fase de engorda em animais vacinados com Porcilis PCV (C) ou Circoflex (D).	43
Tabela 8 – Características das vacinas contra PCV2 mais utilizadas a nível mundial. Adaptado de (Mukherjee et al., 2018)	69
Tabela 9 – Medicação administrada na recria (Porcilis PCV e Circoflex).....	70
Tabela 10 – Medicação administrada na engorda (Porcilis PCV e Circoflex).....	71

Índice de Figuras

Figura 1 – Fotografia da área da maternidade (Fonte: autor).....	12
Figura 2 – Fotografia interior da área da maternidade (Fonte: autor)	12
Figura 3 – Fotografia do parque de inseminação (Fonte: autor)	12
Figura 4 – Fotografia de parque de gestação (Fonte: autor).....	13
Figura 5 – Fotografia de diagnóstico de gestação (Fonte: autor)	13
Figura 6 – Fotografia da área da recria.....	14
Figura 7 – Partícula viral de PCV caracterizada pela sua estrutura ecosaédrica e genoma circular constituído por DNA de cadeia simples (ssDNA). (Fonte: ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics).....	15
Figura 8 – Mapa esquemático do genoma dos Porcine Circovirus 1 e 2 com as respetivas ORFs.....	16
Figura 9 – Diferentes fases do ciclo replicativo do PCV2 numa célula da linha celular monocítica 3D4/31.	18
Figura 10 – Grupos de doenças associadas à infeção por PCV2.....	20
Figura 11 – Corte histológico de um nódulo linfático inguinal num porco saudável (A) e vítima de PMWS (B). Enquanto no caso do porco saudável as regiões interfoliculares estão claramente diferenciadas e preenchidas (A), a presença do vírus PCV2 leva à depleção linfocítica (aumento do número de regiões claras) e distribuição irregular dos remanescentes (maioritariamente células T), o que resulta numa perda da arquitetura nodular. Coloração via Hematoxilina-Eosina. (Adaptado de (Darwich et al., 2002).....	21
Figura 12 – Esquema representativo dos critérios envolvidos no diagnóstico de PMWS em suínos. (Adaptado de Segalés, 2012a).	22
Figura 13 – Lesões dérmicas características de PDNS. (Adaptado de msd-animal-health.ie)	23
Figura 14 – Consequências associadas à infeção in utero por PCV2. (Adaptado de Madson e Opriessnig, 2011).....	24
Figura 15 – Fotografia do exterior da suinicultura onde foi desenvolvido o estágio (Fonte: autor).....	33

Figura 16 – Escala baseada no método de MADEC onde é atribuída uma pontuação de 0 a 1 (ou 0 a 100%) como classificação das lesões pulmonares com base na área superficial afetada. (Adaptado de ceva.asia/madec).....	37
Figura 17 – Fotografia da zona interior da engorda. (Fonte: autor)	40
Figura 18 – Fotografia da zona interior da engorda. (Fonte: autor).....	42

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Procedimentos realizados ao longo da primeira parte do estágio na Herdade da Carrasqueira em vacas de carne. NOTA: os números apresentados no gráfico referem-se ao total de animais tratados/consultados	14
Gráfico 2 – Procedimentos realizados ao longo da segunda parte do estágio na Herdade do Gamoal em clínica de suínos. NOTA: os números apresentados no gráfico referem-se ao total de animais tratados/consultados	15
Gráfico 3 – Prevalência de lesões em tecidos pulmonares em animais vacinados com Circoflex Boeringer e Porcilis PCV. Representação gráfica da prevalência de hepatizações pulmonares (A) e pleuresias (B) em animais vacinados com Circoflex (cor laranja) e Porcilis PCV (cor azul). Os dois tons de cor são referentes às duas avaliações post-mortem efetuadas a tecidos de 100 animais em cada uma delas	36
Gráfico 4 – Taxa de animais vacinados cujo ELISA apresentou anticorpos para PRRS.....	39
Gráfico 5 – Consumo médio por animal dos diferentes tipos de ração durante a fase de engorda. Representação gráfica do consumo médio de ração por animal em animais vacinados com Circoflex (cor laranja) e Porcilis PCV (cor azul). O último grupo representa a quantidade total de ração consumida por animal durante toda esta fase.....	44
Gráfico 6 - Caracterização da carcaça à saída do matadouro. Representação gráfica do peso médio e taxa de rendimento das carcaças em animais vacinados com Circoflex (cor laranja) e Porcilis PCV (cor azul) aquando da saída do matadouro	44

1. CASUÍSTICA DO ESTÁGIO CURRICULAR

1.1. Descrição das atividades desenvolvidas

O estágio curricular realizado na Herdade da Carrasqueira (JMPC) situada em Palmela, teve início no dia 8 de outubro de 2020 e terminou no dia 30 de novembro de 2020 sob a orientação do Dr. João Camejo, veterinário responsável pelos animais que são criados nesta herdade. O horário laboral começava às 9h e terminava às 19/20h excetuando quando existiam urgências. O trabalho incidiu em clínica de bovinos de carne, nomeadamente das raças Limousine, Charolês, Saller, Blonde d'Aquitane e cruzadas.

As atividades desenvolvidas foram diversas, desde procedimentos veterinários básicos, em que foi possível articular conhecimentos teóricos obtidos nas aulas, com atividades práticas derivadas de diversas situações que surgiram. Foi também interessante e produtivo no sentido de ter realizado por diversas vezes outros procedimentos clínicos, tais como: cirurgias, necropsias, métodos de sincronização deaios, diagnósticos de gestação, partos e alguns tratamentos que não tinha tido oportunidade de fazer com tanta regularidade e com isso obter mais experiência nesse campo.

A segunda parte do estágio decorreu na empresa Raporal, na Herdade do Gamoal, em produção de suínos e teve início a 14 de janeiro de 2021 e término a 14 de fevereiro de 2021. O horário decorreu das 8h às 17h na maioria dos dias. Neste estágio sob a orientação do Dr. Diogo Gonçalves, foi possível perceber a importância do manejo profilático, que em suínos é tão importante, tanto na área de reprodução como na recria e engorda. Na área da reprodução, foi possível aprender como funciona a preparação das novas reprodutoras, desde que chegam à exploração, até que iniciam a vida reprodutora. Houve contacto com várias técnicas, tais como, deteção deaios, inseminações, diagnósticos de gestação, tratamentos farmacológicos e vacinação (Figura 3 e 5).



Figura 1 - Fotografia interior da área da maternidade (Fonte: autor)



Figura 2 - Fotografia do parque de inseminação (Fonte: autor)



Figura 4 - Fotografia de parque de gestação (Fonte: autor)

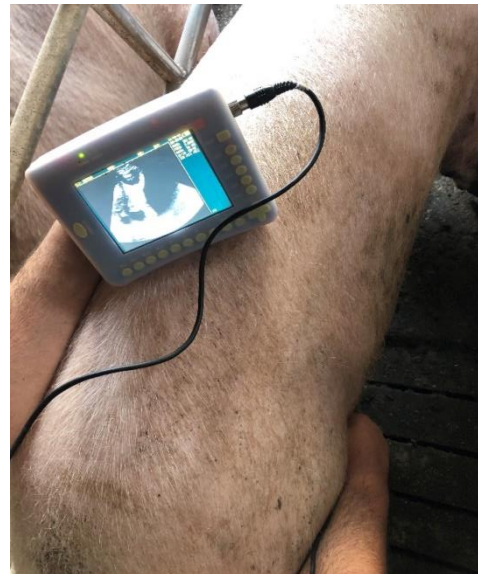


Figura 5 - Fotografia de diagnóstico de gestação (Fonte: autor)

Foi feito o acompanhamento de um estudo, em porcas primíparas vacinadas para *Clostridium* de modo a verificar a eficácia vacinal, através de zaragatoas fecais efetuadas aos leitões, de modo a analisar presença desta bactéria. Na área da recria (Figura 6), engorda e matadouro foi onde foi dedicada a maior atenção e foi parte

integrante do trabalho, pois foi nestas instalações que decorreu o estudo para o trabalho apresentado.



Figura 6 - Fotografia da área da recria

1.2 Dados da casuística

Durante a primeira parte do estágio na Herdade da Carrasqueira (JMPC) em vacas de carne, a casuística consistiu principalmente em manejo sanitário, casos de clínica médica e reprodução (Gráfico 1).

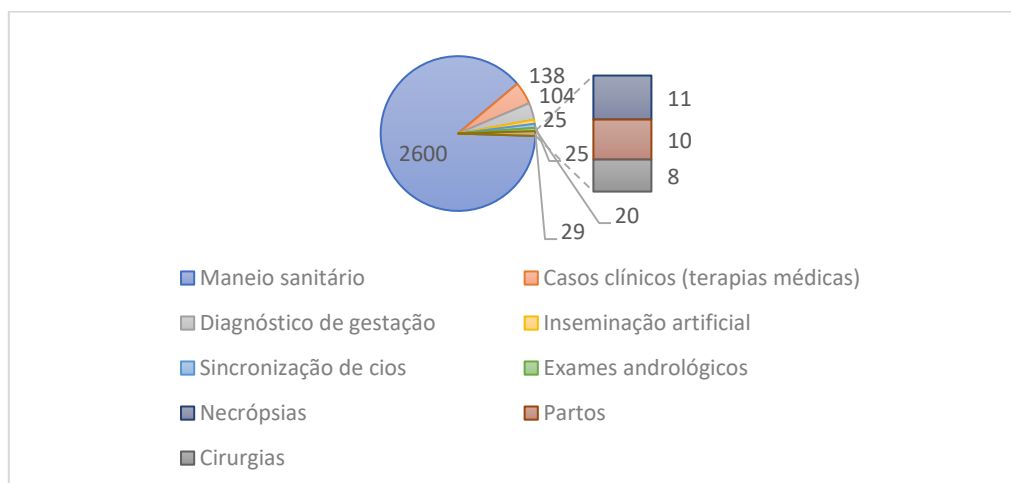


Gráfico 1 – Procedimentos realizados ao longo da primeira parte do estágio na Herdade da Carrasqueira em vacas de carne. NOTA: os números apresentados no gráfico referem-se ao total de animais tratados/consultados.

Na segunda parte do estágio na Herdade do Gamoal em clínica de suínos, a casuística incidu nos procedimentos, cuidados e tratamentos a nível da reprodução, e também no acompanhamento e evolução dos animais na recria, engorda e, posteriormente, na avaliação dos animais em estudo no matadouro (Gráfico 2).

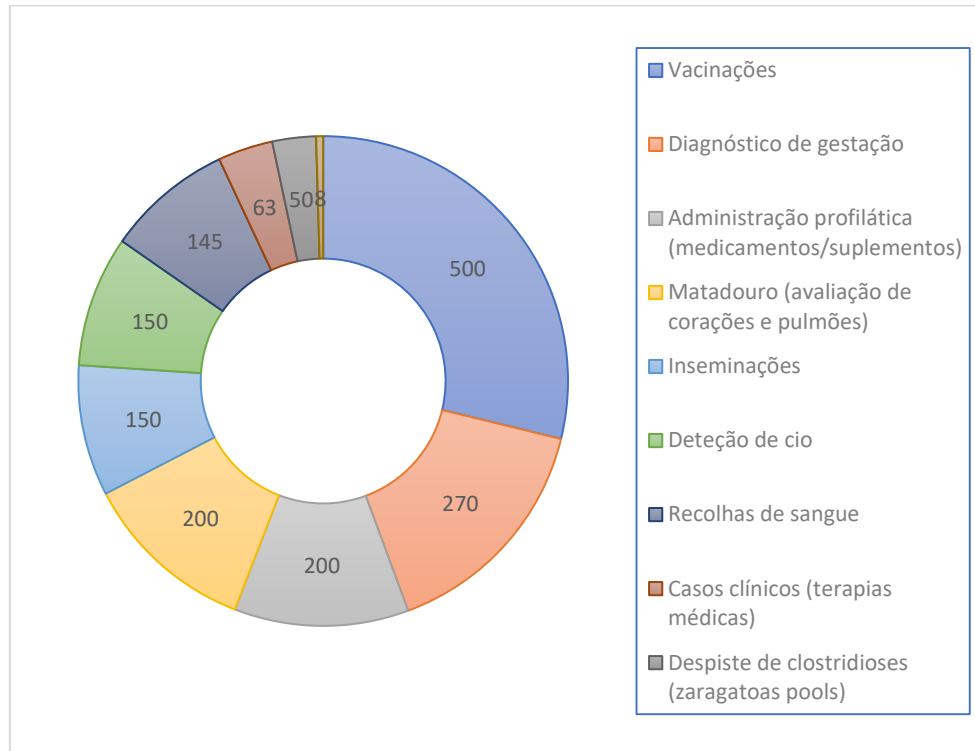


Gráfico 2 – Procedimentos realizados ao longo da segunda parte do estágio na Herdade do Gamoal em clínica de suínos. NOTA: os números apresentados no gráfico referem-se ao total de animais tratados/consultados.

2. Introdução

2.1. Porcine Circovirus type 2 (PCV2)

O circovírus tipo2 (PCV2) (**Figura 7**) é um dos mais pequenos vírus de DNA capazes de infetar mamíferos. Pertencente à família Circoviridae, género *Circovirus*, os primeiros relatos da sua deteção via hibridação in situ remontam ao ano de 1962 (Jacobsen et al., 2009), com o primeiro isolamento e caracterização a ocorrer apenas em 1998 (Allan et al., 1998, Hamel et al., 1998). O final dos anos 90 foi também marcado pela emergência de um elevado número de casos de suínos infetados por PCV2, atingindo uma proporção epidémica nos continentes Europeu (LeCann et al., 1997), Asiático (Choi et al., 2000) e, anos mais tarde (2005), na América (Carman et al., 2006).

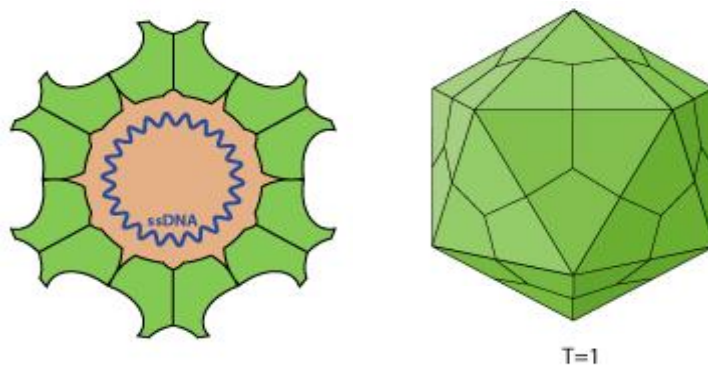


Figura 7 - Partícula viral de PCV caracterizada pela sua estrutura icosaédrica e genoma circular constituído por DNA de cadeia simples (ssDNA). (Fonte: ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics)

O PCV2 é um agente distinto do porcine circovirus type 1 (PCV1), uma forma não patogénica para suínos, previamente identificada em culturas de células PK-15 (Allan et al., 1995). Embora estudos sugiram uma origem comum para estas duas formas, ao que se seguiu uma evolução diferencial, a história evolutiva dos circovirus e o tipo de mutações acumuladas continua a ser tema de debate (Olvera et al., 2007, Ge et al., 2012). Atualmente, o PCV2 é encarado como um dos mais importantes agentes

patogénicos a afetar a criação suína a nível mundial, causando avultados prejuízos económicos nesta indústria. Tal relevância tem conduzido os esforços para a caracterização dos mecanismos de infeção do vírus, o que resultou no surgimento de diversas vacinas com elevado grau de eficácia (Beach and Meng, 2012).

2.1.1. Estrutura e organização genómica

O PCV2 caracteriza-se pela sua estrutura livre de envelope proteico que se traduz numa partícula vírica (virião) de 12 a 23 nm de diâmetro (Rodríguez-Carino and Segales, 2009). Este exhibe uma cápside icosaédrica que incorpora o seu genoma circular de cadeia única (ssDNA) constituído por 1767-1768 nucleótidos (Crowther et al., 2003). Este genoma contém duas grelhas de leitura (ORFs) principais – *rep* (ORF1) e *cap* (ORF2) – que codificam para a replicase e cápside proteica respetivamente (Nawagitgul et al., 2000, Cheung, 2003) e uma secundária (ORF3), que provoca apoptose celular, com pequenas diferenças dependendo do tipo de células afectadas (Zhang et al., 2020). **(Figura 8)**. O estudo comparativo de PCV2 encontrado em diferentes partes do mundo revelou 3.5% de variação entre sequências. Atualmente, essa variação traduz-se na designação das quatro principais variantes do genótipo como *a*, *b*, *c* e *d* (PCV2a, PCV2b, PCV2c, PCV2d) (Segales et al., 2008).

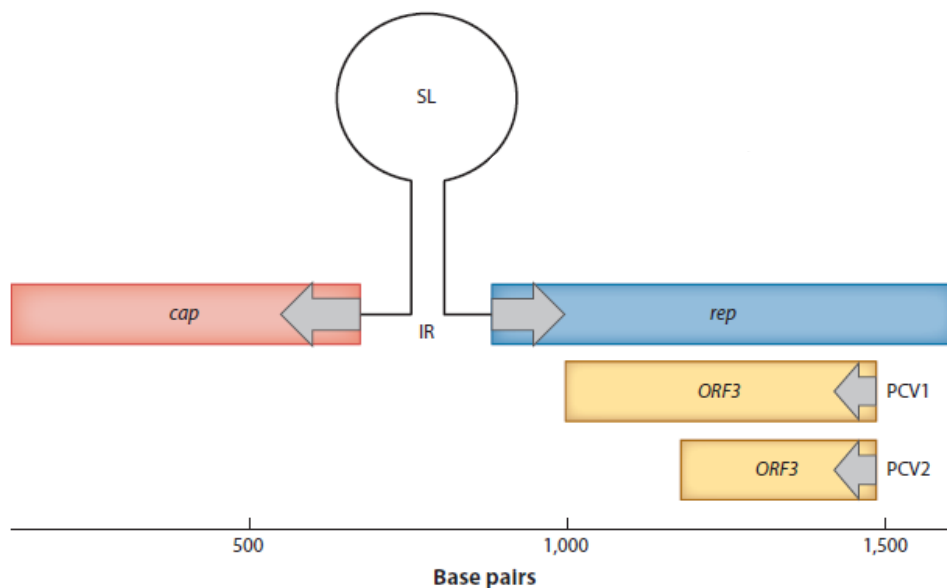


Figura 8 - Mapa esquemático do genoma dos Porcine Circovirus 1 e 2 com as respetivas ORFs.

As duas redes de leitura principais (*cap* e *rep*) são separadas por um stem-loop (SL) localizado na região intergénica (IR). A terceira grelha de leitura conhecida (ORF3). Adaptado de (Meng, 2013).

2.1.2. Infecção e replicação viral

A interação entre o PCV2 e os seus hospedeiros naturais (suíno doméstico e javali) tem vindo a ser descrita como um processo complexo. Estudos apontam a transmissão oro-nasal como a principal via de transmissão do vírus, no entanto, este tem também vindo a ser detetado em secreções salivares, oculares, fecais e bronquiais, bem como no colostro, leite e sémen de animais infetados (Caprioli et al., 2006, Segalés et al., 2005). Tal mostra que outras vias de infecção contribuem para as elevadas taxas de transmissão horizontal observadas aquando do contacto entre animais livres de vírus e animais infetados (Albina et al., 2001). Embora o PCV2 esteja associado a problemas reprodutivos, a transmissão vertical do vírus é ainda controversa. De facto, embora a inseminação de porcas livres de vírus com sémen contaminado culmine na infecção dos fetos, não é ainda claro se a quantidade de vírus naturalmente presente no sémen de animais infetados é suficiente para que tal aconteça (Madson et al., 2009). Por outro lado, a exposição intrauterina dos fetos ao vírus após 70 dias de gestação, demonstrou ser capaz de infetar diversos tipos celulares incluindo hepatócitos e células de linhagem monocítica sem, no entanto, causar aborto (Sanchez et al., 2001).

Num estudo levado a cabo por Misinzo et al. (2006) utilizando a linha celular de monócitos 3D4/31 foi demonstrado que as partículas virais de PCV2 aderem às células do hospedeiro estabelecendo ligação com os resíduos básicos de glicosaminoglicanos (GAGs) (ex. sulfato de heparano) presentes na superfície da membrana celular. Estabelecida a aderência, o vírus é internalizado via endocitose mediada por clatrina ao que se segue a desmontagem da partícula viral por ação de proteases presentes no ambiente ácido dos endossomas. De notar que, enquanto nesta linha monocítica o tratamento das células com inibidores de proteases limitou a replicação viral, outros estudos levados a cabo em linhas de células epiteliais revelaram um aumento dos níveis de replicação viral aquando do bloqueio da diminuição do pH endossomal (Misinzo et al., 2008). Tal sugere que os mecanismos envolvidos no processo de infecção e replicação do PCV2 são dependentes do tipo celular em questão. Após a separação das diferentes componentes, a presença de um *nuclear localization signal* (NLS) faz com

que o ssDNA este seja transportado para o núcleo onde é convertido em DNA de cadeia dupla (dsDNA) pelas enzimas do hospedeiro (Cheung, 2012). Também a polimerase do hospedeiro é responsável pela transcrição da sequência codificante das proteínas não estruturais *rep* e *rep'* (ORF1), as únicas proteínas virais necessárias para o processo de replicação. Estas são recrutadas do citoplasma para o núcleo onde estabelecem ligação com a origem de replicação (localizada no *stem loop*) de forma a clivar e destabilizar o dsDNA e permitir a replicação do genoma, uma vez mais por ação da polimerase do hospedeiro (Faurez et al., 2009, Tischer et al., 1987). Finalizada a replicação, ocorre a reconstrução da partícula viral através do recrutamento da proteína *cap* para o núcleo (com o apoio das *rep/rep'*) que se associa ao genoma (Huang et al., 2015). Embora o processo pelo qual o vírus sai da célula seja ainda desconhecido, é possível que tal ocorra 36 horas depois através da desintegração nuclear e morte celular, consequência da acumulação de um elevado número de viriões no seu interior (**Figura 9**) (Finsterbusch and Mankertz, 2009).

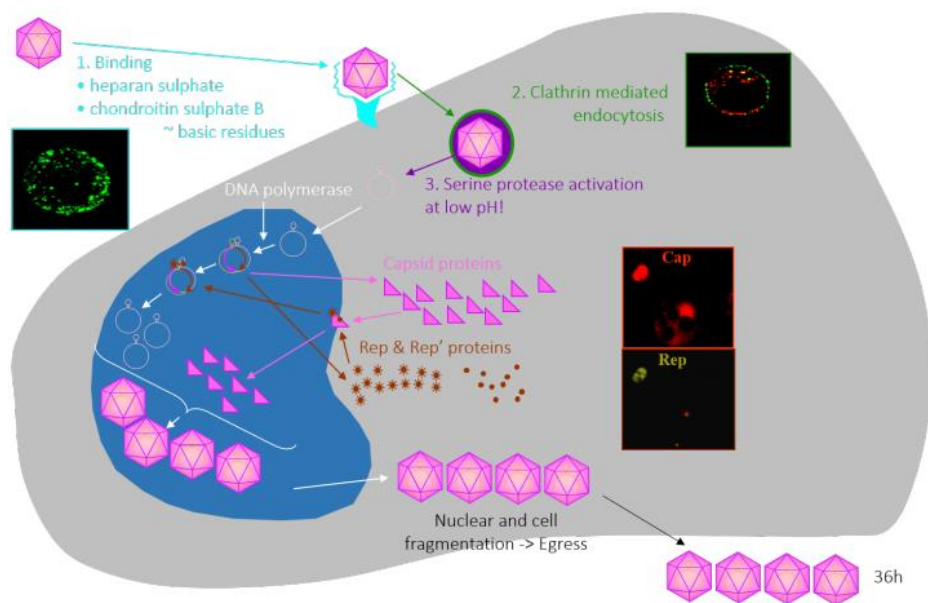


Figura 9 - Diferentes fases do ciclo replicativo do PCV2 numa célula da linha celular monocítica 3D4/31. As principais proteínas envolvidas em cada nível de replicação viral estão marcadas utilizando técnicas de imunofluorescência. Adaptado de (Nauwynck, 2018).

2.1.3. Patogénese

Tratando-se de um vírus que atinge preferencialmente os tecidos linfoides levando à depleção linfocitária, o condicionamento da resposta imune traduz-se numa

replicação progressiva que culmina no comprometimento da função de órgãos vitais (Wei et al., 2019). A infeção por PCV2 tem vindo a ser associada a diversas patologias, coletivamente denominadas PCV2 – associated diseases (PCVADs) (Segales, 2012). Entre elas, destacam-se, ao nível das doenças pulmonares (PCV2-LD), a Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) (Ellis et al., 1998) e a Porcine Dermatitis and nephropathy Syndrome (PDNS) (Phaneuf et al., 2007) no grupo das doenças sistémicas (PCV2-SD), e a Proliferative and Necrotising Pneumonia (PNP) (Drolet et al., 2003). Outras doenças de carácter entérico (PCV2-ED) (Kim et al., 2004) ou que impactam a performance reprodutiva (PCV2-RD) (West et al., 1999) são também muitas vezes consequências da infeção pelo vírus (**Figura 10**).

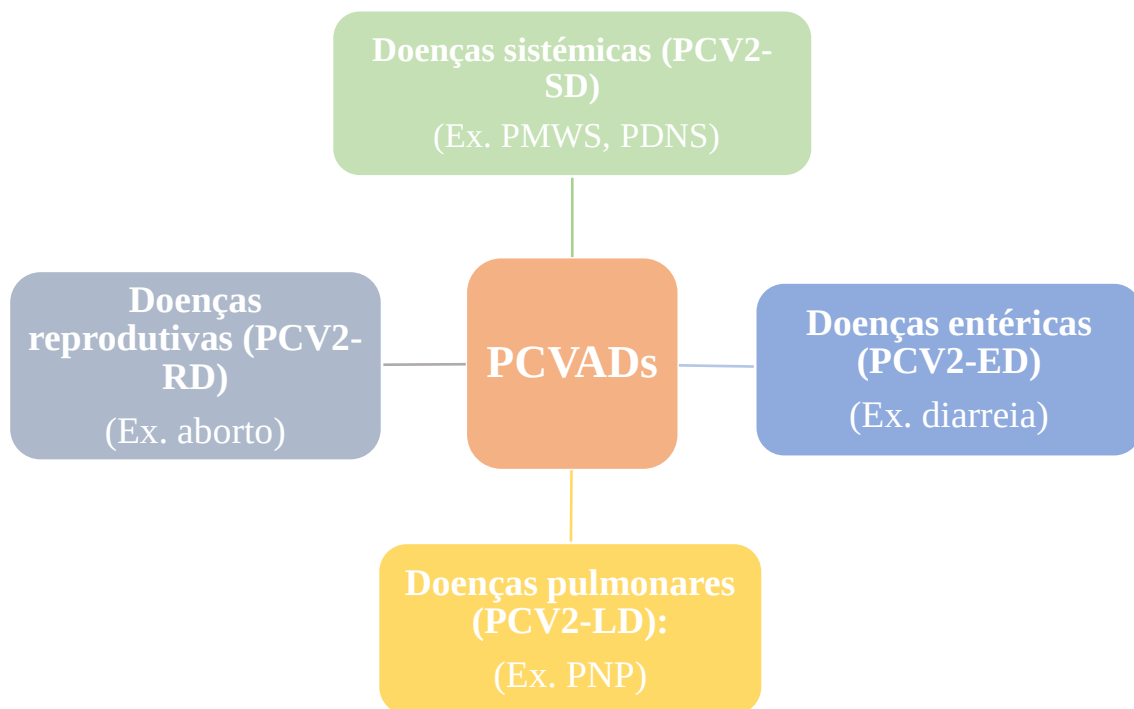


Figura 10 – Grupos de doenças associadas à infeção por PCV2.

2.1.3.1. Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS)

Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS), a síndrome mais frequente associada ao PCV2, foi identificada pela primeira vez no Canadá em 1996 como uma doença que causa até 30% de mortes em leitões de idade entre 6 e 12 meses (Segales, 2012). Em Portugal, os problemas relacionados com a doença foram evidentes entre 1995 e 2003. Diminuindo a partir de 2007, possivelmente devido ao efeito dos programas de vacinação estabelecidos (Henriques et al., 2011).

Estudos demonstraram que a infeção por PCV2 através da via oronasal (principal via de transmissão) é seguida pela replicação viral nas células do trato respiratório, digestivo e posteriormente no sangue, nomeadamente em macrófagos (Patterson et al., 2011). De facto, em resultado da infeção de macrófagos e células dendríticas, ocorre uma transferência do vírus para os linfonodos (ex. bronquiais, inguinais etc.), onde a replicação viral passa a decorrer em linfócitos, levando à sua depleção (como resultado da apoptose) e consequente perda da arquitetura nodular (Li et al., 2012). Após cerca de 3 semanas de contínua replicação viral é possível verificar uma diminuição do número de linfócitos B e células dendríticas nos folículos de tecidos linfáticos secundários, bem como uma distribuição irregular de linfócitos T em regiões interfoliculares (com comprometimento da viabilidade de células CD4⁺) (Sarli et al., 2001). Em alguns casos, a infiltração de histiócitos (células do sistema imunitário) nestas regiões constitui uma agravante ao quadro clínico do animal (Shibahara et al., 2000). Estados avançados da doença, em que há uma grande concentração de antígeno nos tecidos e plasma sanguíneo, caracterizam-se pelo aparecimento dos primeiros sinais clínicos (**Figura 11**) (Chianini et al., 2003).

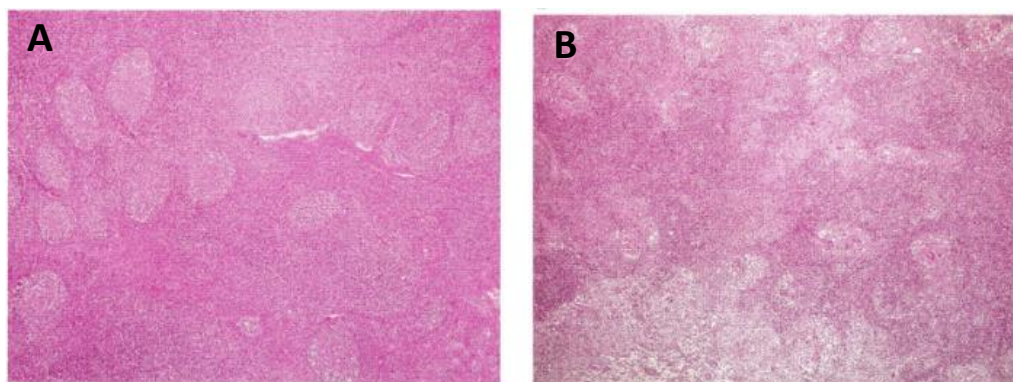


Figura 11 - Corte histológico de um linfonodo inguinal num porco saudável (A) e infectado com PMWS (B). Enquanto no caso do porco saudável as regiões interfoliculares estão claramente diferenciadas e preenchidas (A), a presença do vírus PCV2 leva à depleção linfocítica (aumento do número de regiões claras) e distribuição irregular dos remanescentes (maioritariamente células T), o que resulta numa perda da arquitetura nodular. Coloração via Hematoxilina-Eosina. (Adaptado de (Darwich et al., 2002).

É importante considerar que, atualmente, não é possível reproduzir PMWS experimentalmente (Krakowka et al., 2001). De facto, nessas condições apenas se consegue atingir um cenário semelhante à doença a campo, quando o sistema imune é estimulado através da coinfeção celular com outros agentes patogénicos (ex. Porcine

Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) ou Porcine Parvovirus (PPV)). Tal coloca ainda muitos entraves ao estudo e caracterização detalhada dos mecanismos envolvidos na patogenicidade do PCV2 (Allan et al., 2000b, Opriessnig et al., 2004a). De acordo com isto está também a elevada incidência de casos de infeção subclínica por PCV2. Estes casos, facilmente reconhecidos através da deteção de vírus e respetivos anticorpos em fluidos orais, constituem um fator preponderante na transmissão viral (ex. através de fezes contaminadas) em suíniculturas (Prickett et al., 2008). Assim, em grande parte dos animais que contraem PMWS, com a ocorrência de coinfeções, que associadas a um sistema imune defeituoso, resultam nos casos mais graves (Krakowka et al., 2000, Dorr et al., 2007). Um estudo demonstrou também que muitos destes animais com infeção subclínica apresentam níveis de linfócitos T ligeiramente superiores aos que apresentam a forma clínica, o que pode justificar muitas das diferenças micro e macroscópicas entre os dois grupos (**Figura 12**) (Nielsen et al., 2003).

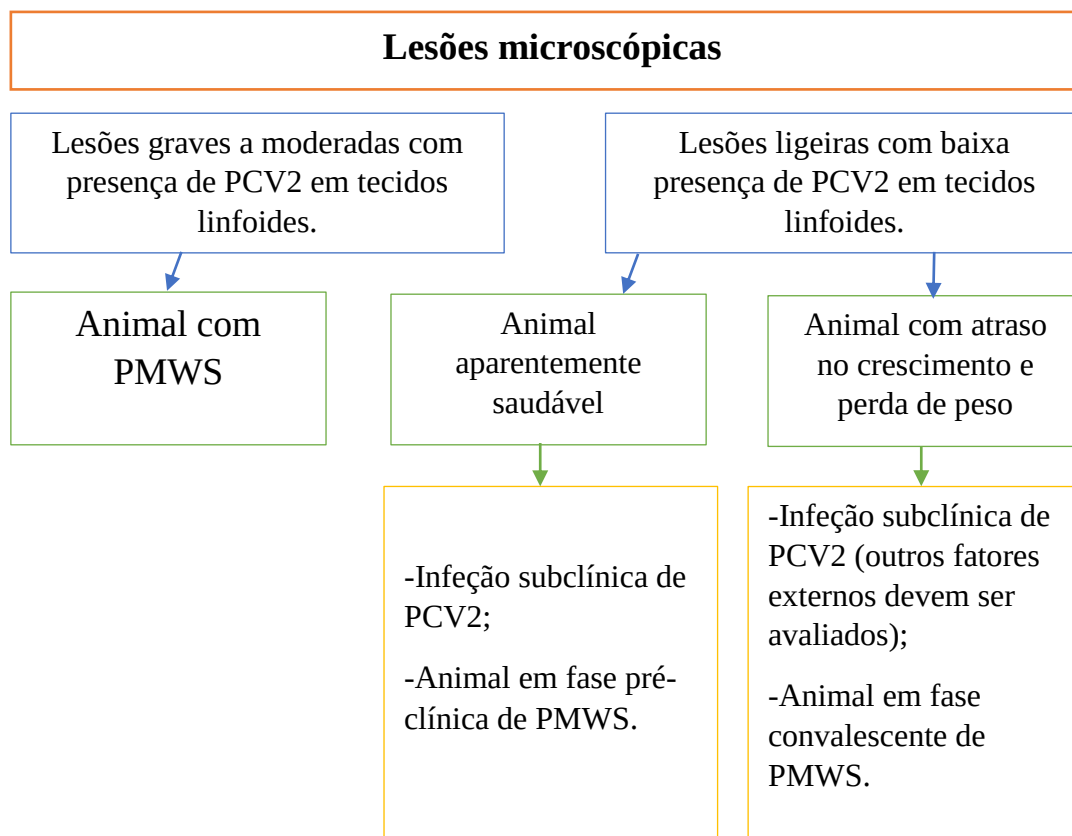


Figura 12 – Esquema representativo dos critérios envolvidos no diagnóstico de PMWS em suínos. (Adaptado de Segalés, 2012a).

Os sinais clínicos associados à doença incluem atraso no crescimento, perda de peso, diarreia, hipertrofia dos linfonodos e imunossupressão sistémica (Fenaux et al., 2003). Uma vez que não existe ainda nenhum tratamento específico para a PMWS, animais diagnosticados são sujeitos a eutanásia, o que resulta nas já referidas perdas económicas (Alarcon et al., 2013).

A demonstração de sinais clínicos de PMWS implica infeção por PCV2, no entanto, dada a ubiquidade do vírus, a presença de anticorpos no animal é um fator insuficiente para diagnosticar esta síndrome. Como tal, o diagnóstico requer (1) a presença dos sinais clínicos já indicados, (2) a presença de lesões microscópicas associadas ao PCV2 (ex. depleção linfocítica, formação de granulomas e níveis elevados da proteína cap) detetadas através de técnicas histopatológicas e (3) a existência de altos níveis de ácidos nucleicos associados ao vírus (ex. genoma viral) em tecidos infetados analisados via qPCR (Sorden, 2000, Opriessnig and Langohr, 2013, Segales, 2012). Técnicas como ELISA para deteção de anticorpos ou imunofluorescência para o reconhecimento de antígenos, embora pouco utilizadas, podem servir como métodos de diagnóstico complementares (Chae, 2004).

2.1.3.2. Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS)

PDNS é clinicamente caracterizada pelo aparecimento de lesões dérmicas agudas na região perineal e das coxas (frequentemente na forma de lesões de cor violeta que evoluem para relevos avermelhados e centro escuro) e febre alta. Tipicamente os animais afetados por PDNS estão anorécticos e apresentam défice de resposta a estímulos (Drolet et al., 1999). Macroscopicamente é também possível encontrar animais doentes com rins hipertrofiados e de cor pálida, já microscopicamente estes animais apresentam tipicamente cenários de vasculite necrotizante associada a inflamação dos glomérulos renais (glomerulonefrite fibrosa ou necrótica) (Segalés, 2012b). Ainda que a prevalência da doença seja baixa (1%), a taxa de mortalidade ronda os 100% em porcos com mais de 3 meses (**Figura 13**) (Segalés et al., 1998).



Figura 13 – Lesões dérmicas características de PDNS. (Adaptado de *msd-animal-health.ie*)

Embora existam estudos antigos que sugerem uma associação temporal entre PDNS e PMWS, na medida em que animais afetados por PMWS tendem a desenvolver PDNS, a etiologia da doença é ainda hoje maioritariamente especulativa. De facto, a associação de PDNS ao vírus PCV2 é ainda circunstancial e a deteção deste nos tecidos não é considerada nos critérios de diagnóstico ditos *standard* (Segalés, 2012b).

2.1.3.3. Reproductive disease (PCV2-RD)

Os primeiros relatos de PCV2-RD foram feitos por West et al. em 1999 em populações de suínos do Canadá. Desde então, outros estudos têm vindo a associar a infeção por PCV2 a casos de aborto, nados-mortos, mumificação fetal ou morte pré-desmame (O'Connor et al., 2001, Opriessnig et al., 2008a, Rovira et al., 2002). Johnson et al. (2002) inoculou 37 fetos de 3 porcas gestantes aos 86, 92 e 93 dias de gestação pela via intramuscular, observando depois 24 porcos normais e 13 porcos mumificados, nados-mortos ou enfraquecidos. Tal confirmou que o PCV2 pode infetar fetos tardios, causando anormalidades reprodutivas (Johnson et al., 2002).

O facto da seroprevalência de PCV2 em porcos adultos ser elevada e muitos grupos reprodutores não apresentarem doença, torna esta condição mais frequente em novas populações maioritariamente constituídas por indivíduos seronegativos (Opriessnig et al., 2007, Togashi et al., 2011). Como referido anteriormente, embora a

transmissão vertical seja ainda tema de debate, independentemente da via de transmissão, o miocárdio do feto parece ser o local preferencial da replicação viral podendo, ou não, resultar na morte do feto (Sanchez et al., 2003). No caso das infeções *in utero*, vários autores acreditam que a existência de manifestações do tipo subclínico pode explicar as diferenças observadas (**Figura 14**) (Madson e Opriessnig, 2011).

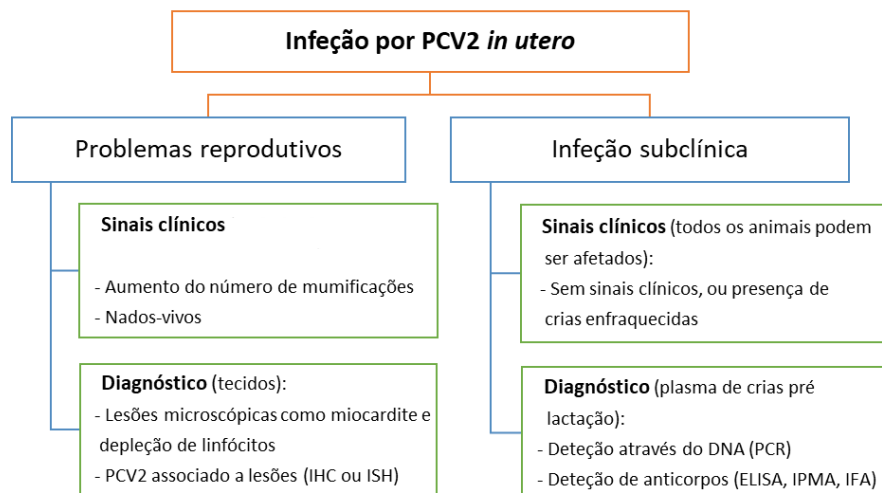


Figura 14 – Consequências associadas à infecção *in utero* por PCV2. (Adaptado de Madson e Opriessnig, 2011)

Os animais infetados *in utero*, caso sobrevivam, constituem não só uma fonte de transmissão para outros porcos, mas estarão também mais suscetíveis a outros tipos de PCVADs durante o crescimento. De qualquer forma o PCV2 é ubíquo, e a sua prevalência não é eliminada pela vacinação das reprodutoras. Mesmo que os animais não sejam infetados *in útero*, os leitões são expostos ao vírus no momento do parto, durante a amamentação, por contato com a progenitora e as suas secreções (Dvorak et al., 2013).

2.1.3.4. Proliferative and necrotizing pneumonia (PNP)

PNP, uma forma severa de pneumonia intersticial, foi pela primeira vez descrita em 1990 na cidade de Quebec no Canadá (Morin et al., 1990). Esta condição caracteriza-se pela presença de graves lesões a nível pulmonar, tendo stress respiratório e dispneia como fatores clínicos principais (Segales, 2012). Na primeira descrição da doença foi reportado que esta pode ocorrer entre os 15 dias e os 4 meses de idade,

apresentando um pico de incidência entre as 4 e as 10 semanas (Morin et al., 1990). Atualmente, essas idades continuam a ser utilizadas como referência, mas o diagnóstico é agora complementado pela análise da presença de patologias ao nível dos brônquios e bronquíolos (ex. fibroplasia peribronquiolar, bronquiolite necrotizante e/ou ulcerativa) (Szeredi and Szentirmai, 2008). É importante notar que para que seja diagnosticado um caso de PNP é necessário que se verifiquem grandes quantidades de PCV2 no pulmão, assim como uma total ausência de lesões ao nível dos tecidos linfoides. Caso contrário poderá tratar-se de um caso de PMWS, onde foram também já descritos problemas respiratórios, incluído algumas formas de pneumonia (Segales, 2012).

Casos de PNP estão também frequentemente associados a coinfeções com outros agentes patogénicos como Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Swine Influenza vírus (SIV) ou *Mycoplasma hyopneumoniae* (Sinha, 2011, Chae, 2016, Grau-Roma and Segalés, 2007). De facto, estudos demonstram que agentes como o PRRSV são determinantes para o aparecimento da doença, apresentando elevada prevalência – num estudo realizado a 60 suínos com PNP, 55 eram portadores de PRRSV, 1 de SIV e 25 de PCV2 (Drolet et al., 2003). Para além disso, a própria ordem de infeção pelos agentes pode influenciar tanto a sua patogenicidade e sintomas da doença (Tsai et al., 2012), como o potencial efeito das vacinas administradas (Chae, 2016).

2.1.3.5. PCV2-associated enteritis (PCV2-ED)

A ocorrência de doenças de carácter entérico em suínos constitui ainda hoje um tema de debate dada a sobreposição de sintomas com outras condições sistémicas (PCV2-SD) que também provocam diarreia (Ex. PMWS) (Opriessnig et al., 2007, Ticó et al., 2013). De facto, os cientistas que defendem a doença entérica como uma condição independente, consideram que para além da ocorrência de diarreia (sintoma principal) e distúrbios do trato digestivo, fatores como a condição dos tecidos linfoides e a carga viral no organismo devem ser analisados (Kim et al., 2004). Com base nisso, parâmetros a ser tidos em conta para o diagnóstico de PCV2-ED passam pelo estudo da ocorrência de enterite granulomatosa e depleção de linfócitos observada microscopicamente nas placas de Peyer assim como presença de níveis elevados de PCV2 tanto nas placas como na mucosa intestinal (Segalés et al., 2004). Contrariamente, no caso de uma

doença sistémica, tanto a depleção das células imunes como a acumulação de partículas virais ocorre também noutros tecidos linfóides do organismo (Segales, 2012). No entanto, um artigo publicado em 2015 por Baró, Sigalés e Martínéz com o objetivo de estudar a relação entre patologias intestinais e a infeção por PCV2, demonstrou que todos os animais com patologias entéricas que também eram positivos para PCV2 apresentavam sinais de infeção viral sistémica. Tal veio favorecer a hipótese de que a contribuição do PCV2 para as doenças entéricas está associada à ocorrência de PCV2-SD e a PCV2-ED na sua forma independente pode ser negligenciada (Baró et al., 2015).

2.1.4. Interação do PCV2 com o sistema imunitário

Como já referido, a infeção por PCV2 está altamente associada com o sistema imune do hospedeiro, afetando o seu funcionamento e consequentemente a resposta do organismo a outros agentes patogénicos. Embora proteínas virais tenham já sido encontradas no citoplasma de diferentes células imunes como é o caso de macrófagos, monócitos e células dendríticas, o papel exato que cada uma delas desempenha no processo de infeção ainda não é totalmente conhecido (Darwich and Mateu, 2012).

Sabe-se que a imunossupressão, causada pela depleção de linfócitos (principalmente células B e T) constitui um fator crítico na progressão das doenças associadas à infeção (ex. PMWS). De facto, em fases mais avançadas da doença é observada uma inversão das proporções de células imunes, tanto nos linfonodos como no sangue, verificando-se que, associada à escassez de linfócitos está um aumento do número de neutrófilos como resultado de uma resposta inflamatória local (Darwich et al., 2002). Desde os primeiros relatos da doença que a queda no número de linfócitos tem vindo a ser explicada como o resultado da replicação viral no interior das células que, em última instância leva à apoptose celular. Ainda hoje, a capacidade do PCV2 para replicar e lesar estas células constitui um dos principais enigmas associados à infeção (Pan et al., 2018). Alguns estudos indicam que tal replicação está limitada a linfócitos em divisão (Lin et al., 2008, Lefebvre et al., 2008), enquanto outros refutam essa ideia ao demonstrar que, embora a administração de agentes promotores da mitose possa estimular a replicação viral, tal não depende do facto da célula estar ou não em mitose (Yu et al., 2009). É, no entanto, possível que diferentes características de determinadas populações de linfócitos, bem como o conjunto de citocinas libertadas,

possam condicionar a suscetibilidade destas células à infeção por PCV2 (Darwich and Mateu, 2012). No que tem a ver com a depleção celular, para além da morte por lise em resultado da replicação viral, também a ativação da via do NF-kB (verificado *in vitro* em células PK15 e macrófagos alveolares infetadas por PCV2) que está envolvida na produção de citocinas poderá ser um fator preponderante na promoção da apoptose (Han et al., 2017, Liu et al., 2007). Assim, embora a combinação destas causas com a destruição da arquitetura nodular constitua uma possível explicação para a depleção linfocitária observada, outros mecanismos poderão estar envolvidos sendo por isso necessária a realização de análises *in vivo* adicionais (Darwich and Mateu, 2012).

Relativamente às células dendríticas, estudos demonstraram que o DNA de cadeia dupla do PCV2 apresenta capacidade imunomodulatória, interferindo não só com os processos sub-celulares mas com o próprio citoesqueleto. De facto, Balmelli e colegas (2011) mostraram que estes ácidos nucleicos, ao serem reconhecidos pelos recetores superficiais, levam a uma diminuição da eficiência de internalização de PCV2 *viral like proteins (VLP)* por parte de células dendríticas de origem mieloide. Esta supressão de funcionalidades básicas dos mecanismos inatos de defesa do organismo é mais um fator que vai de encontro à observada imunossupressão e consequente aumento do risco de infeções secundárias.

2.1.5. Infeções secundárias ou coinfeções

Como já referido, a depleção linfocitária associada à redução da eficiência de resposta imune face à infeção por PCV2 acarreta graves consequências para o organismo, sendo uma das mais críticas o aumento da suscetibilidade para infeções subsequentes. Entre os agentes mais frequentes neste tipo de doença destacam-se os respiratórios (*Mycoplasma hyopneumoniae* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*) assim como o Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) (Chae, 2016).

Para além do seu envolvimento na já referida PNP, *M. hyopneumoniae* é o principal causador de pneumonia enzoótica, uma doença respiratória crónica que afeta suínos com cerca de 8 semanas de idade (Thacker et al., 1999). Primariamente identificada na superfície mucosa da traqueia, brônquios e bronquíolos, esta bactéria condiciona o funcionamento dos cílios localizados no epitélio respiratório, pondo em causa o sistema de ‘limpeza’ da mucosa (Blanchard et al., 1992). Como consequência, esta infeção aumenta a predisposição do animal para infeções de outros agentes

patogénicos respiratórios como parasitas, bactérias ou vírus como o PCV2 (Maes et al., 2018). Num estudo realizado em 2004, porcos com 4 semanas foram inoculados com *M. hyopneumoniae* seguindo-se uma segunda inoculação com PCV2 às 6 semanas de idade. Os resultados revelaram que 23.5% dos porcos infetados por ambos os agentes apresentavam diminuição da taxa de crescimento, severa depleção de linfócitos e lesões granulomatosas nos nódulos linfáticos associada a níveis elevados de PCV2. Os autores concluíram assim que a infeção por *M. hyopneumoniae* não só potenciava a severidade das lesões pulmonares e linfoides associadas ao PCV2, como aumentava a quantidade e a prevalência desse vírus nos animais, promovendo a ocorrência de doenças sistémicas como a PMWS (Opriessnig et al., 2004b).

Actinobacillus pleuropneumoniae (APP) é outra bactéria frequentemente associada a doenças respiratórias em suínos (Haesebrouck et al., 1997). Esta é tipicamente encontrada nas amígdalas e trato respiratório superior, transmitindo-se assim a curtas distâncias através da dispersão de gotículas no ar. A severidade da doença é dependente da quantidade de agente presente no organismo do animal, na medida em que uma grande quantidade de bactéria resulta em níveis elevados de toxinas a nível pulmonar (Jobert et al., 2000). Sinais clínicos passam por febre alta, tosse e anomalias respiratórias que, em muitos dos casos, culminam em morte repentina por paragem cardíaca (Bossé et al., 2002). Dada a severidade de algumas estirpes de *A. pleuropneumoniae*, a infeção por este agente é considerada um fator de alto risco que geralmente leva à morte de animais imunodeprimidos ou com o sistema imune condicionado por outro agente patogénico (ex. PCV2 ou *M. hyopneumoniae*) (Cheong et al., 2017, Wang et al., 2015, Haimi-Hakala et al., 2017). Num estudo recente observou-se que o PCV2 não só facilitava a aderência e invasão dos macrófagos alveolares por parte do APP como também promovia a sobrevivência deste através da inibição da produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) via NADPH Oxidase. Para além disso, verificou-se que a coinfeção de PCV2 e APP caracterizava-se por uma diminuição da produção de citocinas pro-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , comprometendo a resposta imune (Qi et al., 2019).

Quando se fala em perdas económicas na indústria suína mundial, outra das doenças que é frequentemente referida é a PRRS (Neumann et al., 2005). Causada por infeção pelo agente PRRSV, esta doença caracteriza-se pela sobreposição de duas condições clínicas – problemas reprodutivos e doença respiratória – que atingem animais numa diversa gama de idades. Para além de sinais clínicos como perda de peso,

febre, anomalias respiratórias, parto prematuro ou aborto, lesões ao nível dos pulmões e linfonodos, são também bastante frequentes e passíveis de evoluir para doenças graves (Zimmerman et al., 2013). Uma das principais características do PRRSV é o facto de este poder permanecer no organismo do animal portador por mais de 100 dias, embora em muitos casos o animal atinja a imunidade e pare de transmitir o vírus após 60 dias. Este tipo de infeção denominada “persistente”, constitui o mais importante fator de transmissão viral e contribui para a inserção do vírus em novas populações suínas (Benfield et al., 2000b). A transmissão pode ocorrer via secreções (ex. urina, sémen) ou fezes, havendo também alguns relatos mais recentes de transmissão pela via aérea (Christianson et al., 1993, Rossow et al., 1994, Arruda et al., 2019). Fatores como a ocorrência de transmissão vertical (*in utero* ou pós-parto) muitas vezes causada pela prática de inseminação artificial com sémen contaminado são também críticos para a disseminação viral dentro de uma determinada população (Maes et al., 2008, Benfield et al., 2000a, Rowland, 2010, Harding et al., 2017). Após a infeção, a replicação viral parece ocorrer em células portadoras do recetor superficial CD163 (Calvert et al., 2007) como é o caso dos macrófagos alveolares e macrófagos intravasculares no pulmão, dos macrófagos derivados de monócitos nos tecidos linfoides e das células dendríticas (Thanawongnuwech et al., 1997, Duan et al., 1997). No que se refere a casos de coinfeção com PCV2, diversos estudos têm vindo a dar conta do impacto do PRRSV na promoção da replicação do PCV2, o que resulta não só em casos mais severos de pneumonia viral associada ao PRRSV mas também ao agravamento das lesões relacionadas com a PMWS (Allan et al., 2000a, Harms et al., 2001, Rovira, 2002). Esta interação foi reforçada num estudo de 2011 onde se verificou uma maior quantidade de DNA de PCV2 no plasma, esfregaços orais, nasais e fecais de animais infetados por ambos os agentes, assim como maior quantidade de PCV2 nos tecidos. No mesmo estudo foi também observado que a infeção por PRRSV prolongava a presença de DNA de PCV2 no plasma, alertando assim para a importância do controlo do PRRSV de forma a diminuir a transmissão de PCV2 em populações suínas (Sinha et al., 2011).

2.1.6. Vacinação contra o PCV2

A vacinação contra o PCV2 é o método mais utilizado para proteger os animais das diferentes manifestações clínicas da infeção – PCVADs. A primeira vacina

comercialmente disponível – Circovac® (*Merial Inc.*) – surgiu em 2004 com disponibilidade restrita à França e Alemanha, tendo sido globalmente disponibilizada no ano de 2007 (Burch et al., 2009, Charreyre and Vaganay, 2005). Baseada na administração de uma forma inativada de PCV2, é a única vacina licenciada para administração em porcas reprodutoras e leitões pós-desmame. Tal está associado à exposição dos leitões ao vírus numa fase precoce do seu desenvolvimento na medida em que, por serem portadores de forte imunidade de origem materna, permanecem resistentes a possíveis contactos com o PCV2 durante o seu ciclo de vida (Opriessnig et al., 2010, Pejsak et al., 2010, Kurmann et al., 2011). Desde então, outras vacinas têm vindo a ser desenvolvidas (Anexo A – Tabela 8), podendo estas ser divididas em dois grupos de acordo com a sua constituição: (1) vacinas portadoras da proteína *Cap* do PCV2 expressa num sistema de baculovírus e (2) vacinas constituídas por uma forma quimérica e inativada do vírus, contendo a estrutura base do agente não patogénico PCV1 em que o gene da cápside foi substituído pelo do PCV2 (Fort et al., 2008, Fenaux et al., 2004).

Neste trabalho, para além da vacina Circoflex Boehringer®, foi testada a utilização da Porcilis PCV® MSD (*Intervet/Schering-Plough Animal Health, Boxmeer, The Netherlands*). Esta, cujo princípio ativo vai de encontro ao modelo 1, foi licenciada em 2009 e já demonstrou ser bem tolerada pelo animal, tendo não só um importante efeito ao nível da redução da mortalidade, virulência e carga viral como também ao nível da produtividade suína, promovendo o ganho diário de peso (Martelli et al., 2011).

Geralmente, os parâmetros imunológicos utilizados para determinar a eficácia de uma vacina contra o PCV2 baseiam-se no estudo da indução de anticorpos capazes de neutralizar o vírus (Park et al., 2014). Estes apresentam vários mecanismos de neutralização incluindo a inibição da ligação do vírus aos recetores superficiais da célula, interferência com o próprio processo de entrada ou até mesmo com os mecanismos endossomais responsáveis por fazer o “*uncoating*” do genoma viral para replicação (Corti and Lanzavecchia, 2013, Plotkin, 2008). De facto, estudos têm vindo a demonstrar a eficácia de diversas vacinas através da observação de anticorpos 20 dias após administração da mesma, associado a uma diminuição da carga viral no plasma e maior número de células produtoras de IFN- γ (Seo et al., 2014, Opriessnig et al., 2008b).

Embora a maior parte das vacinas atualmente licenciadas nos diferentes países apresentem resultados bastante satisfatórios, desde a sua introdução tem-se vindo a

observar um aumento do número de variantes virais do PCV2. De facto, até ao ano de 2004, PCV2a era o principal genótipo observado nos Estados Unidos, situação que se alterou entre 2007 e 2009 com a emergência do PCV2b que esteve associado a graves surtos virais no país. Embora alguns estudos defendam a ideia de que o genótipo b está associado a uma estirpe mais virulenta, os resultados têm vindo a ser mistos (Gagnon et al., 2007, Guo et al., 2011). O mesmo acontece com a ideia de que o genótipo b surgiu devido à pressão seletiva induzida pela introdução das vacinas (Dupont et al., 2008, Firth et al., 2009). Atualmente já foram identificados 8 genótipos diferentes, PCV2a, PCV2b, PCV2c, PCV2d, PCV2e, PCV2f, PCV2g e PCV2h.

As vacinas comerciais atuais são eficazes contra os genótipos virais do PCV2, no entanto algumas vacinas experimentais, demonstraram ter um resultado ainda mais eficaz no controlo da virémia (Guo et al., 2022).

Perante o atual cenário, com uma grande variedade de vacinas disponíveis no mercado e com o surgimento de novas estirpes virais, é imperativo que se tome conhecimento de quais as mais eficazes.

3. Objetivos do trabalho

Este trabalho teve como objetivos:

- Avaliar qual a vacina com melhor capacidade de imunização nos dois grupos de suínos. **Vacina do grupo A** – Porcilis PCV (MSD) 0.2ml intradérmica. **Vacina do grupo B** – Circoflex Boehringer 1ml intramuscular. Ambas portadoras da proteína Cap do PCV2 expressa num sistema de baculovírus.
- Verificar através de análises laboratoriais a presença de PRRS por intermédio de qPCR para detecção de antígeno e ELISA para detecção de anticorpos, uma vez que pode atuar e potenciar concomitantemente com o PCV2. Verificar através de qPCR se os animais tinham valores de antígeno positivos para o PCV2.
- Perceber e comparar o efeito da vacina em diversos parâmetros nos dois grupos de suínos: índices de conversão (IC); ganhos médios diários (GMD); média do peso individual e do lote à entrada da recria; peso total de cada lote; média do aumento de peso desde a entrada na recria até à entrada para a engorda; média do aumento do peso individual e do lote durante a engorda até ao abate; média total de alimento consumido durante a recria e engorda; peso da carcaça no matadouro e taxa de mortalidade.
- Avaliação post-mortem de corações e pulmões no matadouro para verificar lesões características, como hepatizações, pleurísias e pericardites de forma a comparar a maior incidência entre os dois grupos.

4. Materiais e métodos

4.1. Descrição da exploração

Este trabalho foi realizado durante o estágio na empresa Raporal, na suinicultura da Herdade do Gamoal I e Gamoal III, situada em Pegões. No Gamoal I foi realizada a parte da reprodução, maternidade e recria. Este local tem a capacidade máxima para 1300 porcas reprodutoras e 294 maternidades e uma capacidade na recria para 4900 leitões. Estes últimos são posteriormente encaminhados para a engorda no Gamoal III, uma suinicultura de engorda com uma capacidade máxima para 6000 animais (Figura 15).



Figura 15 – Fotografia do exterior da suinicultura onde foi desenvolvido o estágio (Fonte: autor)

4.1.2. Animais e tratamento experimental

Após o desmame, às 3 semanas de idade, os animais foram separados aleatoriamente em dois grupos, sendo um dos grupos de leitões vacinados com a vacina A (750 leitões) e o outro com a vacina B (750 leitões) contra o circovírus suíno (PCV2). Nesta altura, foi avaliado o peso ao desmame dos leitões e os animais foram simultaneamente vacinados contra o Circovírus e *Mycoplasma*. Aos animais do grupo A

foi administrada por via intradérmica a vacina Porcilis PCV ID (0,2ml) da MSD e aos restantes foi administrada por via intramuscular a vacina Circoflex da Boehringer 1ml (IM). (Anexo A - Tabela 9). A administração da vacina para o Micoplasma (M+PAC 2ml IM) foi realizada no mesmo dia com dose única.

Todos os animais foram mantidos nas instalações da recria em parques separados com as mesmas condições de densidade, alimentação e temperaturas. Durante as semanas da recria, foi avaliado o ganho médio diário (GMD), o índice de conversão (IC), a média do peso individual, os kg totais de cada lote, a média do aumento do peso e a taxa de mortalidade que tiveram desde a entrada na recria até à saída para a engorda.

Os leitões saíram para a fase de engorda quando atingiram as oito, nove e dez semanas correspondente à mesma semana (dia) de entrada para os três grupos, sendo que o grupo mais novo tinha duas semanas de diferença para o mais velho no dia da saída para a engorda. Desta forma, o grupo mais velho esteve 46 dias na recria, o grupo intermédio 39 dias e o grupo mais novo 32 dias. Estes animais foram igualmente mantidos com as mesmas condições durante toda a fase de engorda, pois as instalações eram totalmente iguais a todos os níveis. Estas instalações possuíam as mesmas áreas de densidade, condições de temperaturas e ventilação, bebedouros e comedouros e os animais permaneceram o mesmo tempo nas mesmas durante toda a fase de engorda.

4.1.3 Amostras

As recolhas de sangue foram efetuadas na veia jugular, sempre nos mesmos animais e durante o mesmo dia, de modo a não influenciar os resultados, e foram feitas pelo veterinário responsável, com o mínimo stress possível. Estas amostras foram analisadas às 11 semanas de vida para a deteção de anticorpos no plasma sanguíneo, num primeiro controlo, através da análise ELISA para PRRS em 15 animais de cada grupo das vacinas A e B. A recolha e análise foram repetidas passadas 4 semanas e novamente após 5 semanas. Para além destas pesquisas, foi feito, nas mesmas datas, um controlo de PRRS e de PCV-2 através de qPCR em seis pools de suínos de cada grupo de 5 animais (60 no total) para a determinação dos valores de antigénio. É importante referir que estas recolhas de sangue, para além da pesquisa destes agentes específicos, são feitos rotineiramente para o controlo de possíveis coinfeções com os agentes infecciosos *Mycoplasma hyopneumoniae* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Os animais saíram para o matadouro às 23 semanas de idade, e nesta altura foram analisados corações e pulmões de 200 animais de cada grupo para a identificação de possíveis lesões, como pericardites, pleurisias e hepatizações pulmonares de *Actinobacilos pleuropneumoniae* e *Mycoplasma hyopneumoniae*. Com base nisso, o trabalho desenvolvido no matadouro focou-se na deteção de lesões como pleurisias, conhecido como Sistema de Avaliação de Pleurisia em Matadouros (Slaughterhouse Pleurisy Evaluation System - SPES), estabelecida por Dottori et al., 2007. Os valores para determinar o Índice para *Actinobacillus Pleuropneumoniae* (APPI) foram divididos em quatro categorias: Ligeiro < 0,28; Intermédio de 0,28 a 0,53; Intermédio alto de 0,53 a 0,81; Grave > 0,81 (Dottori et al., 2007).

Os valores do índice de APPI foram calculados através da frequência de lesões de pleurite com uma pontuação de SPES ≥ 2 num lote, multiplicado pela pontuação média de lesões de pleurite em animais com SPES ≥ 2 .

Fórmula de cálculo (APPI= (Nº de lesões score 2 x 2) + (Nº de lesões score 3 x 3) + (Nº de lesões score 4 x 4) / nº de pulmões avaliados.

As hepatizações pulmonares ou lesão pulmonar através do método Madec & Kobisch (1982) o qual preconiza a classificação de área pulmonar de acordo com a percentagem total de cada lobo pulmonar afetado. No método Madec & Kobish cada um dos sete lobos pulmonares foi avaliado individualmente e classificado de acordo com sua aparência macroscópica, usando um sistema de 0 a 4 pontos. O cálculo foi feito pelo (nº de pulmões hepatizados / pelo total de pulmões do grupo). Os valores de IPP (Índice para Pneumonia) foram classificados através da escala de valores de Morés et al., (1999), após o resultado obtido através do Método Madec & Kobish (1982). Foram também avaliadas possíveis pericardites. Foi calculado o peso individual ao abate e da carcaça de cada animal.

5. Resultados

Os resultados obtidos não foram sujeitos a análise estatística, por razões relacionadas com o processamento dos dados. A discussão foi feita tendo em conta a comparação entre as duas vacinas, realçando que os resultados devem ser interpretados com cautela, sendo esta parte uma limitação do estudo.

5.1. Análise de tecidos post-mortem

Como já referido, a infeção por PCV2 está associada à ocorrência de lesões em órgãos como o coração e os pulmões. Tal acontece também frequentemente devido à coinfeção por agentes patogénicos secundários como é o caso do *A. pleuropneumoniae* ou *M. hyopneumoniae*. Desta forma, a realização de uma análise a diferentes tecidos na tentativa de identificar possíveis lesões, constitui um procedimento crítico naquilo que é o estudo das consequências da infeção tipicamente associadas com a morbilidade e morte, bem como do possível efeito diferencial das duas vacinas nas mesmas. A prevalência das lesões encontradas durante duas avaliações a animais vacinados com Circoflex e Porcilis PCV estão representadas no Gráfico 3.

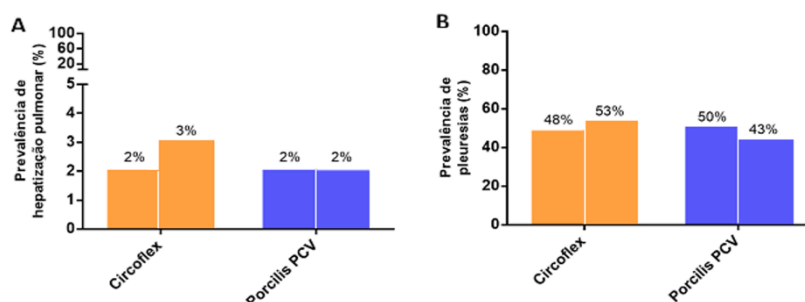


Gráfico 3 – Prevalência de lesões em tecidos pulmonares em animais vacinados com *Circoflex Boeinger* e *Porcilis PCV*.

Representação gráfica da prevalência de hepatizações pulmonares (A) e pleuresias (B) em animais vacinados com Circoflex (cor laranja) e Porcilis PCV (cor azul). As duas barras são referentes às duas avaliações *post-mortem* efetuadas a tecidos de 100 animais em cada uma delas.

Os resultados obtidos demonstram uma baixa prevalência de hepatizações pulmonares em ambos os grupos de animais vacinados com Circoflex ou Porcilis PCV. Comparativamente, após a avaliação através do Método Madec & Kobish (1982), os animais vacinados com Circoflex (grupo B) apresentaram uma prevalência média de 2,5%, semelhante à prevalência de 2% observada em animais vacinados com Porcilis PCV (grupo A). Considerando a elevada incidência de patologias como a pneumonia enzoótica em casos de infeção por PCV2, procedeu-se à avaliação do Índice para

Pneumonia (IPP). Os valores de IPP interpretados através da escala de Morés et al., (1999) (Tabela 1), revelaram que os dois grupos de animais estavam com uma boa condição pulmonar. O grupo A teve um valor de IPP de 0,02 e o grupo B apresentou um valor de 0,02 na primeira avaliação e 0,03 na segunda avaliação. No que se refere à prevalência de pleurísias, o cenário observado é diferente. Em média, estas foram observadas em 50.5% de animais vacinados com Circoflex e 46.5% dos vacinados com Porcilis PCV. Apesar de uma prevalência significativa de pleuresias, o grau de SPES foi baixo na maioria dos animais e no cálculo do Índice para *actinobacillus pleuropneumoniae* (APPI) verificou-se que se encontravam dentro de valores considerados aceitáveis. No grupo A o valor de APPI foi de 0,51 e 0,48 na primeira e segunda avaliação respectivamente. No grupo B os valores de APPI foram 0,38 na primeira avaliação e 0,54 na segunda avaliação.

Finalmente, não foram encontrados sinais de pericardite no coração de quaisquer animais avaliados, apresentando assim uma prevalência de 0% em ambos os grupos (não representado graficamente).

Índice para pneumonia (IPP)	
<0.55	Ausência
0.55-0.89	Não problemático
>0.9	Grave

Tabela 1: Escala classificativa do índice para pneumonia (IPP), segundo Morés et al., 1999

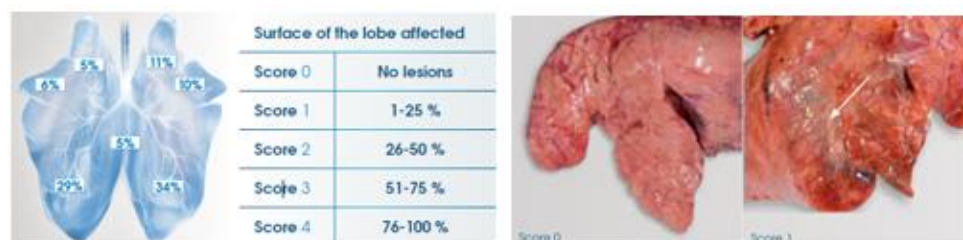


Figura 16 – Escala baseada no método de MADEC onde é atribuída uma pontuação de 0 a 4 (ou 0 a 100%) como classificação das lesões pulmonares com base na área superficial afetada. (Adaptado de ceva.asia/madec)

Os IPPs observados demonstraram uma ausência de lesões pulmonares em ambos os grupos de animais vacinados com Circoflex e Porcilis PCV (Tabela 2):

Vacina	Avaliação 1	Avaliação 2
Circoflex	0.02	0.03
Porcilis PCV	0.02	0.02

Tabela 2: IPPs obtidos nas duas avaliações efetuadas a animais vacinados com Circoflex e Porcilis PCV.

5.2. Estudo comparativo na exploração

Com o objetivo principal de estudar a eficácia de cada uma das vacinas contra a infeção por PCV2, procedeu-se à avaliação quantitativa de um conjunto de parâmetros relevantes nas diferentes fases do processo de criação de suínos. Desta forma, suínos administrados com Porcilis PCV ou Circoflex imediatamente após o desmame, foram acompanhados desde a fase de recria até a sua entrada na fase de engorda. Os valores de peso e mortalidade obtidos para cada um dos grupos vacinados, bem como a diferença entre os grupos estão representados na Tabela 3.

Tabela 3: Comparação de pesos médios, totais e taxa de mortalidade de dois grupos de suínos administrados com Porcilis PCV (n=750) ou Circoflex (n=750) durante a fase de recria

	Porcilis PCV	Circoflex	Diferença (Porcilis-Circoflex)
Peso médio ao desmame (Kg)	6.359	6.425	-0.066
GMD na recria (Kg/dia)	0.335	0.327	0.008
Aumento médio de peso na recria (Kg)	14.185	13.851	0.334
Peso médio fim da recria (entrada para engorda) (Kg)	20.61	20.21	0.4
Peso total fim da recria (entrada para engorda) (Kg)	15 458.32	15 161.24	297.08
Mortalidade (%)	1.4	1.9	-0.5

Legenda: GMD - ganho médio diário

Ao comparar os resultados obtidos em cada um dos grupos, verificou-se que o GMD durante toda a fase de recria foi semelhante entre os animais vacinados com Porcilis PCV e Circoflex. O mesmo se pode dizer relativamente ao aumento médio de peso durante a mesma fase, embora este tenha sido ligeiramente superior em animais vacinados com Porcilis PCV. Em consequência, o mesmo aumento ligeiro foi observado quando comparados os pesos médios e peso total do grupo no fim do período de recria.

Por outro lado, relativamente à taxa de mortalidade, verificou-se que esta foi mais baixa em animais vacinados com Porcilis PCV (Tabela 4 - A e B).

A - Porcilis PCV				B – Circoflex			
Semanas de vida	Data	Causas		Semanas de vida	Data	Causas	
		Coli/Diar	Menin.			Coli/Diar	Menin.
5	21/set/18	1		5	26/set/18	1	
6	24/set/18	1		6	27/set/18	1	1
5	29/set/18	1		9	1/out/18		1
6	3/out/18	1	1	5	4/out/18	1	
6	12/out/18		1	6	8/out/18	1	1
9	17/out/18	1	1	6	13/out/18	1	
8	26/out/18	1		6	14/out/18	1	
9	1/nov/18	1		8	17/out/18	1	
				8	18/out/18		1
				8	19/out/18		1
				8	23/out/2018		1
				9	01/nov/18	1	

Tabela 4: Causas da mortalidade inesperada durante a fase de recria em animais vacinados com Porcilis PCV (A) ou Circoflex (B).

No grupo A há a destacar a ocorrência de 10 óbitos, tendo 7 deles sido causados por casos de colite aguda e os restantes por casos pontuais de meningite. As causas de morte foram atribuídas tendo em conta a sintomatologia clínica que os animais apresentaram, não tendo sido feita necrópsia aos animais que morreram durante o estudo. Já no que se refere ao grupo de animais que receberam a vacina Circoflex, ocorreram 8 mortes causadas por colite e 6 derivadas de meningite.

5.1.1. Fase de engorda

Com a entrada dos animais na fase de engorda (Figura 17), foi realizado um conjunto de testes controlo para a presença de PRRS e PCV2 no organismo dos animais. Os resultados obtidos com o ELISA para detecção de PRRS estão representados no (Gráfico 4).

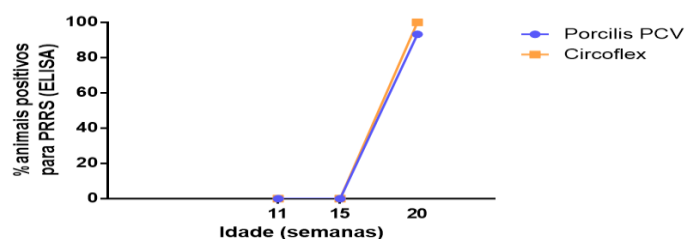


Gráfico 4 – Taxa de animais vacinados cujo o ELISA apresentou anticorpos para PRRS .



Figura 17 – Fotografia do comedouro da fase de engorda (Fonte: autor)

Os resultados obtidos demonstraram que, embora não tenham sido detetados anticorpos em nenhum dos animais dos grupos aquando da realização dos dois primeiros controlos (11 e 15 semanas de idade), passadas 5 semanas, todos os 15 animais vacinados com Circoflex e 14 dos 15 vacinados com Porcilis PCV apresentavam anticorpos para o PRRS no plasma.

Contrariamente, a deteção de PRRS de estirpe europeia e norte americana via qPCR (não representada graficamente) não revelou qualquer animal positivo às 20 semanas de idade (nem em nenhuma outra semana de vida avaliada). Neste caso, os animais de ambos os grupos testaram negativo para a presença de genoma viral de PRRS em todos os três *timepoints*.

A presença de PCV2 foi avaliada recorrendo novamente à técnica de qPCR exatamente nos mesmos *timepoints* das análises anteriores. Para tal, os animais administrados com cada uma das duas vacinas foram divididos em 6 grupos (pools de 5 animais), a partir dos quais foram recolhidas amostras coletivas para realização do teste. Os resultados obtidos para os diferentes grupos ao longo das semanas estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados de qPCR relativos à presença de PCV2 em grupos de animais vacinados com Porcilis PCV ou Circoflex ao longo de 9 semanas.

Vacina	Grupos de animais	Semana 11	Semana 15	Semana 20
Porcilis PCV	Grupo 1	8,08x10 ²	<100	1,89x10 ²
	Grupo 2	9,15x10 ²	<100	3,98x10 ²
	Grupo 3	<100	4,88x10 ²	<100
	Grupo 4	<100	2,38x10 ²	2,03x10 ³
	Grupo 5	<100	3,80x10 ²	2,63x10 ²
	Grupo 6	<100	5,22x10 ²	9,79x10 ⁴
Circoflex	Grupo 1	<100	3,51x10 ³	<100
	Grupo 2	<100	5,07x10 ³	<100
	Grupo 3	<100	6,96x10 ³	<100
	Grupo 4	<100	1,09x10 ³	<100
	Grupo 5	<100	1,74x10 ⁴	1,41x10 ²
	Grupo 6	<100	2,17x10 ³	<100

Legenda: O retângulo vermelho representa um resultado positivo enquanto a cor cinzenta representa um resultado negativo para a presença de genoma de PCV2. Os resultados são apresentados nas unidades de nº de cópias/ml de soro avaliado

No primeiro controlo (semana 11), verificou-se que dois grupos administrados com Porcilis PCV apresentaram valores positivos para PCV2; todos os outros, incluindo os animais administrados com Circoflex revelaram-se negativos. Ao fim de quatro semanas foi feito novo controlo no qual se verificou que os dois grupos que tinham previamente testado positivo eram agora os únicos a testar negativo – todos os outros, incluindo os animais vacinados com Circoflex apresentaram resultados positivos para a presença de PCV2.

Foi efetuado um último controlo após cinco semanas. Neste constatou-se que os dois grupos administrados com Porcilis PCV tinham voltado a testar positivo, existindo assim, neste *timepoint*, cinco de seis grupos com valores positivos para PCV2 e apenas um grupo a testar negativo. No caso dos animais vacinados com Circoflex, apenas um grupo se encontrava positivo para PCV2 na vigésima semana de idade

Tratando-se de uma fase crítica no processo de criação de suínos, a engorda tem como objetivo a geração de um produto com características dentro dos padrões de qualidade nacionais e internacionais. Tal é dependente de um conjunto de fatores (desde o ganho médio de peso até ao rendimento da carcaça) que ditam o balanço entre os custos de produção e a qualidade do produto. Este balanço é frequentemente avaliado

através do cálculo de índices de conversão (IC), podendo estes, ser de carácter económico ou zootécnico.

Com o objetivo de avaliar se o tipo de vacina administrada constitui um fator moderador desses parâmetros, os ganhos médios de peso, IC e taxa de mortalidade na engorda (Figura 18) foram avaliados em animais vacinados com Porcilis PCV ou Circovflex. Os resultados estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6 – Comparação do GMD, índices de conversão, rendimento e taxa de mortalidade de dois grupos de suínos administrados com Porcilis PCV ou Circovflex durante a fase de engorda.

	Porcilis PCV	Circovflex	Diferença (Porcilis-Circovflex)
GMD na engorda (Kg/dia)	0.89	0.90	-0.01
Consumo médio de ração (Kg)	204.48	207.25	-2.77
Peso médio vivo (Kg)	107.97	106.26	1.71
IC Económico	2.35	2.42	-0.07
IC Zootécnico	2.37	2.44	-0.07
Rendimento da carcaça (%)	77	78	-1
Mortalidade (%)	0.4	1.1	-0.7

Legenda: GMD - ganho média diário; IC Económico - Índice de conversão económico; IC Zootécnico – Índice de conversão zootécnico



Figura 18 – Fotografia da zona interior da engorda. (Fonte: autor)

Como resultado da comparação do impacto do tipo de vacina nos parâmetros avaliados durante a engorda, há a notar o efeito favorável da Porcilis PCV. A sua administração não só se refletiu num maior peso médio vivo, como resultou em índices

de conversão económico e zootécnico mais favoráveis. Relativamente à morte inesperada dos animais (Tabela 7) há a relatar 3 mortes no grupo de animais vacinados com Porcilis PCV (1 caso de pneumonia severa e 2 de colite). Já no grupo de animais tratados com Circoflex, o número de mortes inesperadas foi substancialmente mais elevado. De um total de 8 mortes registadas neste grupo, 4 delas resultaram de casos de colite, 3 de pneumonia e 1 derivada de meningite grave.

Tabela 7 – Causas de mortalidade inesperada durante a fase de engorda em animais vacinados com Porcilis PCV (C) ou Circoflex (D).

C - Porcilis PCV					D – Circoflex				
Semanas de vida	Data	Causas			Semanas de vida	Data	Causas		
		Coli/Diar	Menin.	Pneum.			Coli/Diar	Menin.	Pneum.
10	27/out/18				10	26/nov/18			
14	24/nov/18				14	12/dez/18		1	
14	26/nov/18			1	14	15/dez/18			1
18	28/dez/18				18	22/dez/18			
19	4/jan/19	1			19	23/dez/18			
20	8/jan/19				20	26/dez/18			1
20	10/jan/19				20	12/jan/19	4		
21	12/jan/19				21	13/jan/19			
22	25/jan/19	1			22	19/jan/19			1
25	14/fev/19				25	25/jan/19			

Durante a fase de recria e engorda foi possível constatar que os resultados refletiram um maior consumo de ração de crescimento, pelo grupo vacinado com Circoflex. Esta tendência inverteu-se aquando da fase final de engorda em que o lote vacinado com Porcilis PCV apresentou maior consumo por animal. Na totalidade, durante toda a fase de engorda, observou-se que o grupo Circoflex consumiu maior quantidade de ração (Gráfico 5).

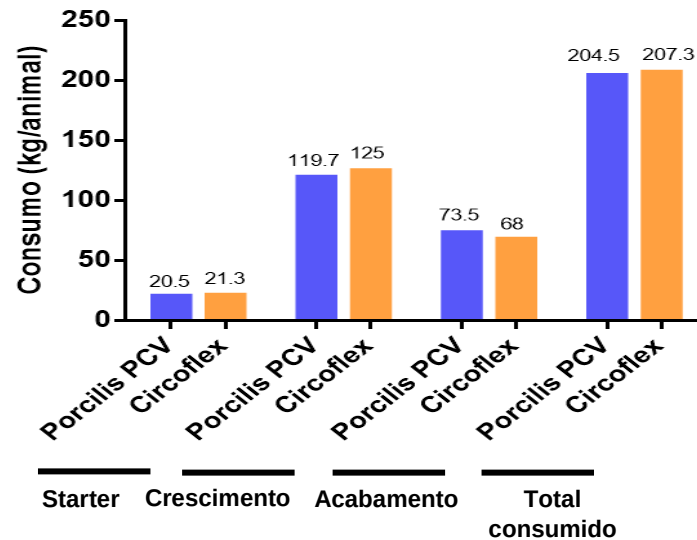


Gráfico 5 – Consumo médio por animal dos diferentes tipos de ração, durante a fase de engorda. Representação gráfica do consumo médio de ração por animal em animais vacinados com Circoflex (cor laranja) e Porcilis PCV (cor azul). O último grupo representa a quantidade total de ração consumida por animal durante toda esta fase.

Dos fatores mais importantes a ser considerados na produção suína para consumo é a qualidade da carcaça, podendo esta ser avaliada através de parâmetros quantitativos como o peso médio e o rendimento. Este último é afetado por fatores como o peso de abate, desenvolvimento muscular e espessura da camada de gordura. A caracterização das carcaças de animais de ambos os grupos à saída do matadouro está representada no Gráfico 6.

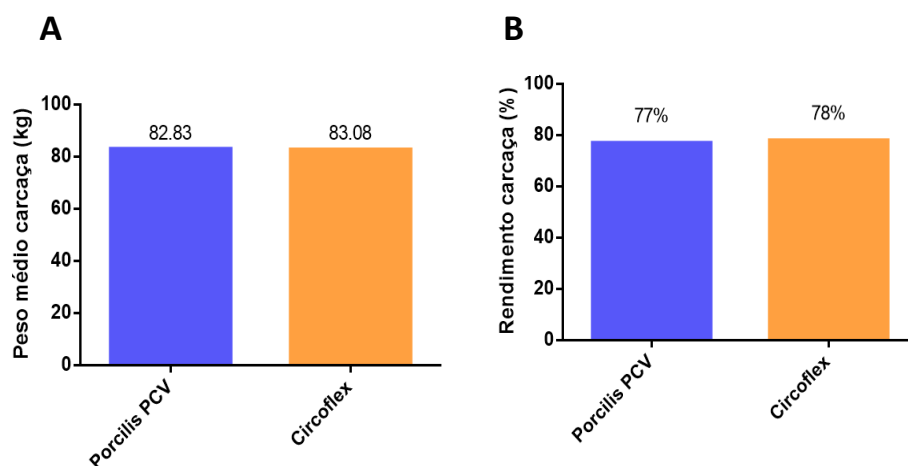


Gráfico 6 - Caracterização da carcaça à saída do matadouro

Representação gráfica do peso médio e taxa de rendimento das carcaças em animais vacinados com Circoflex (cor laranja) e Porcilis PCV (cor azul) aquando da saída do matadouro.

Em concordância com os resultados obtidos na análise de consumo de ração durante a engorda, o lote vacinado com Circoflex, que apresentou maior consumo por animal, revelou também um peso médio de carcaça ligeiramente superior (Gráfico 6A). Por outro lado, quando se trata de rendimento por carcaça, essa tendência deixa de ser visível com ambos os grupos a apresentar valores semelhantes (Gráfico 6B).

6. Discussão de resultados

É imprescindível a vacinação contra o circovírus suíno tipo 2 (PCV 2) para o controlo das doenças causadas e coadjuvadas por este vírus. Apesar das vacinas protegerem quase totalmente os animais, eles não adquirem imunidade total. Como tal, os focos de infecção continuam a surgir nas explorações (Kekarainen T., 2014).

O PCV2 é ainda mais problemático quando outros agentes patogénicos estão presentes nos animais, como o *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhyo). No mesmo estudo experimental segundo o autor (Sibila et al., 2013), verificou-se que Mhyo tem uma capacidade de estimular a produção de macrófagos e desta forma potenciar a infecção de PCV2 quando inoculado duas semanas primeiro que o PCV2. Outros estudos experimentais comprovaram que a inoculação dos dois agentes em simultâneo não potenciavam as lesões do PCV2 (Sibila et al., 2013). Na vacinação contra o Mhyo ficou descrito que poderia potenciar a infecção de PCV2 no caso de infecção. Depois disso também se colocou a hipótese desse aumento da replicação do PCV2 ser devido aos adjuvantes imunológicos que continha a vacina. Devido à dificuldade na obtenção de certezas científicas de como e quando administrar as vacinas, combinadas ou em simultâneo, apenas se chegou à conclusão que o facto de serem administradas em dose única em simultâneo seria benéfico no sentido de causar menos stress aos animais e a nível de trabalho ser mais fácil (Sibila et al., 2013).

Os leitões deste ensaio após o desmame, foram vacinados para o PCV2 e Mhyo com uma dose única e em simultâneo. Alguns estudos de campo relatam que as administrações destas duas vacinas após o desmame podem afectar o rendimento dos animais, como diminuição do consumo e crescimento (Sibila et al., 2013). Neste ensaio efectuado numa exploração da Raporal, durante o estágio curricular, os ganhos médios diários foram bastante satisfatórios, acima de 300g no final da recria e acima das 700g no final da engorda. A produtividade em ambos os grupos de animais foi semelhante, apresentando resultados equiparados em todos os parâmetros avaliados. De salientar que o grupo A (Porcilis PCV) entrou para a recria com um peso médio ligeiramente inferior e superou o grupo B (Circoflex) em todos os pontos avaliados como GMD, aumento de peso médio na recria, peso médio no final da recria e peso total no final da recria, mas com diferenças pouco significativas. Não foi possível avaliar a média de consumo por

animal e o total consumido no final da recria em ambos os grupos. O silo que fazia a distribuição da ração na recria nesta exploração era único e como tal não foi possível para contabilizar o que cada grupo consumiu neste período. A taxa de mortalidade foi satisfatória para ambos os grupos, apresentando valores dentro dos padrões da normalidade, apesar da mortalidade dos leitões do grupo B ter sido ligeiramente superior com uma percentagem de 1.9%, enquanto a percentagem de mortalidade do grupo A foi de 1.4%. É importante referir que as causas de morte foram atribuídas tendo em conta a sintomatologia clínica que os animais apresentaram, não tendo sido feita necropsia aos animais que morreram durante o estudo. De acordo com estudos feitos às explorações afectadas pela doença, os registos dos índices de mortalidade variam entre os 4 e 20% (Ségales & Domingo, 2002).

Os animais seguiram para a engorda com uma idade média de nove semanas. Os dois grupos apresentaram valores de produtividade muito semelhantes, revelando ser dois lotes muito homogéneos. Relativamente ao GMD, os animais do grupo A apresentaram um valor de 890 gramas e os do grupo B atingiram 900 gramas, diferindo apenas em 10g sendo praticamente iguais. No total de consumo médio de ração por animal, os animais do grupo A consumiram menos 3kg de ração em comparação com os do grupo B. Mesmo tendo consumido menor quantidade de ração, o seu peso médio vivo superou, em aproximadamente 1kg, os do grupo B. No rendimento da carcaça, os animais do grupo A obtiveram um resultado ligeiramente inferior, de apenas 1%, em comparação com os do grupo B. Estes animais de ambos os grupos obtiveram uns resultados bastante satisfatórios. Na taxa de mortalidade, os resultados do grupo A foram mais satisfatórios do que os do grupo B, apresentando apenas 3 mortes (0.4%) e o grupo B 8 mortes (1.1%). No entanto tendo em conta o número de animais de cada grupo, estes valores são muito baixos, não representando problemas preocupantes.

Em concordância com os resultados obtidos na fase de recria, também esta comparação demonstra a elevada eficácia da vacina Porcilis PCV, que para além de favorecer a qualidade do produto, parece reduzir o risco de doenças respiratórias como é o caso da pneumonia. Já no grupo de animais tratados com Circoflex, o número de mortes inesperadas foi substancialmente mais elevado.

Os controlos dos agentes infecciosos foram realizados através de análises laboratoriais com início às onze semanas. As análises foram efectuadas por recolha de sangue aos animais para determinar os agentes infecciosos PRRS e PCV2. As lesões de PCV2 podem ainda ser mais graves e ter uma replicação maior quando os animais

contraem concomitantemente os agentes infecciosos. Isto pode ser explicado pelo facto destes vírus atacarem as mesmas células de defesa do organismo, como os monócitos e macrófagos (Allan et al., 2000). A primeira análise para PRRS pelo método ELISA revelou que nas semanas 11 e 15 não foram detetados anticorpos para PRRS, contrariamente à 20ª semana em que todos os animais apresentaram anticorpos para o PRRS, com excepção de um suíno do grupo A. Isto poderá ser explicado pelo facto de ser um vírus de campo a estar em circulação na exploração e os animais terem entrado em contacto até duas semanas antes. O facto de apresentarem anticorpos para o vírus não significa necessariamente que estejam infectados e vão desenvolver sintomas da doença, apenas indica que os animais estiveram expostos ao PRRS. É também um teste que produz muitos falsos positivos (Podgórska & Stadejek, T., 2016).

A deteção do vírus PRRS foi também confirmada através de qPCR para avaliar o genoma viral no soro dos animais e verificar se existia algum animal positivo ao vírus. De acordo com a Associação Americana de Veterinários Suínos, cada pool de amostras não deve ultrapassar cinco soros de animais, afim da análise ter uma melhor sensibilidade e especificidade (Holtkamp DJ et al., 2011).

Os resultados foram negativos para todos os animais, o que confirma que estes suínos não estavam infectados com o vírus.

Procedeu-se à avaliação dos mesmos animais, com a técnica qPCR, para avaliar se estavam positivos ao vírus PCV2. Os resultados demonstraram que o vírus estava em circulação, pois os animais testaram positivo, apesar de os valores apresentados não serem preocupantes. Vários estudos defendem que os limiares de detecção para valores de PCV2 por qPCR de $10^{4.7}$ não são problemáticos (Harding et al, 2008). No entanto, assumiu-se que valores iguais ou superiores a 10^7 estão correlacionados com lesões e diagnóstico da doença (Hjulsager et al., 2009). Todos os pools de suínos dos dois grupos de vacinas testaram positivo em pelo menos um dos controlos numa determinada semana. Apenas um pool de suínos da vacina do grupo B (Circoflex) testou positivo em duas análises consecutivas, à 15ª semana e 20ª semana. Todos os outros pools deste grupo B não voltaram a testar positivo.

Nos animais do grupo A (Porcilis PCV), ocorreram pools positivos em todas as semanas de controlo e apenas um pool de animais teve valores positivos numa das três semanas de controlo. Todos os outros pools repetiram valores positivos em duas semanas de controlo. Os que apresentaram não são valores preocupantes, todos os pools

nas três semanas de avaliação estavam abaixo de 10^4 e apenas um pool testou igual a 10^4 .

Estes animais não apresentaram qualquer sintoma da doença em nenhuma fase da engorda o que está em concordância com os resultados das análises e dos índices de produtividade.

Apesar dos valores das análises e dos índices de produtividade apresentarem melhores resultados para a vacina utilizada no grupo A, a empresa optou por continuar a vacinar 85% dos animais com a vacina A e os restantes 15% com a vacina B. Isto deve-se ao facto de um estudo efetuado a 1500 animais não poder servir de padrão para todos os animais a longo prazo.

No matadouro, as análises macroscópicas revelaram uma baixa prevalência de lesões pulmonares através do método Madec & Kobisch (1982) em ambos os grupos. O grupo A teve um IPP de apenas 0.02 nas duas avaliações e o grupo B teve um valor igual de 0.02 na primeira avaliação e de 0.03 na segunda avaliação. Estes valores revelam que os animais estavam com uma boa condição pulmonar. No grupo A apenas 4 animais em 200 avaliados tiveram lesões pulmonares (hepatizações) de grau 1 e no grupo B apenas 5 animais tiveram lesões pulmonares de grau 1 num total de 200 animais. Tendo em conta a escala de valores estabelecida por Morés et al. (1999), resultados < 0.55 são considerados de ocorrência baixa, de $\geq 0.55 < 90$, de ocorrência moderada e > 90 assume-se que existe ocorrência alta de pneumonia.

Na avaliação de pleuresias através do método Slaughterhouse Pleurisy Evaluation System (SPES), estabelecida por Dottori et al., (2007) obteve-se um resultado satisfatório em ambos os grupos. Apesar da prevalência de lesões de pleuresia ser significativa para ambos os grupos (46.5% para o grupo A e 50.5% para o grupo B), a severidade das lesões foram baixas. No grupo A obteve-se um valor de APPI de 0,51 e 0,48 na primeira e segunda avaliação, respetivamente. No grupo B os valores de APPI foram 0,38 na primeira avaliação e 0,54 na segunda avaliação. Com estes resultados e segundo Dottori et al., (2007) podemos concluir que apenas o grupo B na segunda avaliação esteve dentro dos valores de médio risco (0,53-0,81), mas no valor mínimo dentro da escala. Valores de APPI superiores a 0,81 são graves e preocupantes e deverão ser analisados microscopicamente.

Estes métodos de avaliação de pulmões por pontuação em matadouros são de elevada importância e uma poderosa ferramenta para avaliar as lesões pulmonares mesmo em animais sem sintomas clínicos. (Ostanello et al., 2007).

7. Conclusão

A vacinação dos animais e as medidas profiláticas continuam a ser as melhores valências para combater o Circovírus porcino tipo 2. O impacto negativo que provoca a nível económico e produtivo é enorme e o investimento nos planos profiláticos são de extrema importância e bastante compensadores.

Neste estudo, apesar dos índices zootécnicos terem revelado um crescimento e saúde animal bastante favorável, nas análises verificou-se que em determinados momentos durante a engorda os animais estiveram em contato com o vírus. As duas vacinas aplicadas em ambos os grupos revelaram ter uma boa capacidade de imunização, mantendo os animais saudáveis durante todo o ensaio. A vacina A apresentou melhores resultados nos parâmetros zootécnicos e na mortalidade. Apesar de não ser uma diferença muito preocupante, acabou por revelar um melhor desempenho durante este ensaio. Ainda assim, mais estudos deverão ser realizados para que se conclua qual a vacina que melhor funciona na prevenção do Circovírus porcino tipo 2.

Também é de salientar que estes animais se encontravam em condições excelentes ao nível da biossegurança interna e externa, tendo contribuído bastante para o desempenho produtivo. Neste sentido, todas as medidas tomadas foram essenciais para que estes animais chegassem ao final da engorda com resultados bastante satisfatórios.

8. Referências Bibliográficas

- Alarcon, P., Rushton, J., Wieland, B. (2013). Cost of post-weaning multi-systemic wasting syndrome and porcine circovirus type-2 subclinical infection in England – An economic disease model. *Prev Vet Med*, 110(2), 88 –102.
- Albina, E., Truong, C., Hutet, E., Blanchard, P., Cariolet, R., L'Hospitalier, R., ... Jestin, A. (2001). An Experimental Model for Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in Growing Piglets. *J Comp Pathol*, 125, 292 – 303.
- Allan, G. M., Mcneilly, F., Cassidy, 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. *Vet Microbiol*, 44, 49-64.
- Allan, G., Mcneilly, F., Ellis, J., Krakowka, S., Meehan, B., McNair, I., ... Kennedy, S. (2000a). Experimental infection of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) potentiates PCV2 replication. *Arch Virol*, 145(11), 2421 – 2429.
- Allan, G. M., Mcneilly, F., Kennedy, S., Daft, B., Clarke, E. G., Ellis, J. A., ... Adair, B. M. (1998). Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe. *J Vet Diagn Invest*, 10, 3-10.
- Arruda, A. G., Tousignant, S., Sanhueza, J., Vilalta, C., Poljak, Z., Torremorell, M.,... Corzo, C. A. (2019). Aerosol Detection and Transmission of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): What Is the Evidence, and What Are the Knowledge Gaps?. *Viruses*, 11(8), 712.
- 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*, 132, 57-65.

- Baró, J., Segalés, J. & Martinez, J. (2015). Porcine circovirus type 2 (PCV2) enteric disease: an independent condition or part of the systemic disease? *Vet Microbiol*, 176(1-2), 83-87.
- Beach, N. M. & Meng, X. J. (2012). Efficacy and future prospects of commercially available and experimental vaccines against porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Res*, 164(1-2), 33 – 42.
- Benfield, D., Nelson, J., Rossow, K., Nelson, C., Steffen, M. & Rowland, R. (2000b). Diagnosis of persistent or prolonged porcine reproductive and respiratory syndrome virus infections. *Vet Res*, 31, 71 – 71.
- Blanchard, B., Vena, M. M., Cavalier, A., Lannic, J. L., Gouranton, J. & Kobisch, M. (1992). Electron microscopic observation of the respiratory tract of SPF piglets inoculated with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet Microbiol*, 30(4), 329-341.
- Bossé, J. T., Janson, H., Sheehan, B. J., Beddek, A. J., Rycroft, A. N., Kroll, J. S. & Langford, P. R. (2002). *Actinobacillus pleuropneumoniae*: pathobiology and pathogenesis of infection. *Microbes Infect*, 4(2), 225-235.
- Burch, D., House, R. & Windsor, B. S. (2009). Control of PCV2 associated disease through vaccination. *International Pig Topics*, 23(8), 13-15.
- Calvert, J. G., Slade, D. E., Shields, S. L., Jolie, R., Mannan, R. M., Ankenbauer, R. G. & Welch, S. K. (2007). CD163 expression confers susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *J Virol*, 81(14), 7371 – 7379.
- Caprioli, A., Mcneilly, F., McNair, I., Lagan-Tregaskis, P., Ellis, J., Krakowka, S., ... Allan, G. (2006). PCR detection of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in blood, tonsillar and faecal swabs from experimentally infected pigs. *Res Vet Sci*, 81(2), 287-292.

Carman, S., Cai, H. Y., Delay, J., Youssef, S. A., Mcewen, B. J., Gagnon, C. A., ... Van Dreumel, T. (2008). The emergence of a new strain of porcine circovirus-2 in Ontario and Quebec swine and its association with severe porcine circovirus associated disease - 2004-2006. *Can J Vet Res*, 72(3), 259-268.

Carman, S., Mcewen, B., Delay, J., Van Dreumel, T., Lusi, P., Cai, H. & Fairles, J. (2006). Porcine circovirus-2 associated disease in swine in Ontario (2004 to 2005). *Can Vet J*, 47(8), 761-762.

Chae, C. (2004). Postweaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. *Vet J*, 168(1), 41-49.

Chae, C. (2016). Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet J*, 212, 1-6.

Charreyre, C., Bésème, S., Brun, A., Bublot, M., Joisel, F., Lapostolle, B.,... Vaganay, A. (2005). Virological Protection of Piglets against a PCV2 Experimental Challenge by Vaccinating Gilts with an Inactivated Adjuvanted PCV2 Vaccine, Circovac®: Serological, Clinical and Pathological Aspects. In Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Dinamarca, 16-19 de Julho. p.176.

Cheong, Y., Oh, C., Lee, K. & Cho, K.-H. (2017). Survey of porcine respiratory disease complex-associated pathogens among commercial pig farms in Korea via oral fluid method. *J Vet Sci*, 18(3), 283-289.

Cheung, A. K. (2003). The essential and nonessential transcription units for viral protein synthesis and DNA replication of porcine circovirus type 2. *Virology*, 313(2), 452 – 459.

Cheung, A. K. 2012. Porcine circovirus: transcription and DNA replication. *Virus Res*, 164(1-2), 46-53.

Chianini, F., Majo, N., Segales, J., Dominguez, J. & Domingo, M. (2003). Immunohistochemical characterisation of PCV2 associate lesions in lymphoid and non-

lymphoid tissues of pigs with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Immunol Immunopathol*, 94(1-2), 63-75.

Choi, C., Chae, C. & Clark, E. G. (2000). Porcine postweaning multisystemic wasting syndrome in Korean pig: detection of porcine circovirus 2 infection by immunohistochemistry and polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest*, 12(2), 151 – 153.

Christianson, W. T., Choi, C.-S., Collins, J. E., Molitor, T. W., Morrison, R. B. & Joo, H.-S. (1993). Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in mid-gestation sows and fetuses. *Can Vet J*, 57(4), 262 – 268.

Corti, D. & Lanzavecchia, A. (2013). Broadly neutralizing antiviral antibodies. *Annu Rev Immunol*, 31, 705 – 742.

Crowther, R. A.; Berriman, J. A.; Curran, W. L.; Allan, G. M.; Todd, D. (2003). Comparison of the Structures of Three Circoviruses: Chicken Anemia Virus, Porcine Circovirus Type 2, and Beak and Feather Disease Virus. *J Virol*, 77(24), 13036–13041.

Darwich, L. & Mateu, E. (2012). Immunology of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Res*, 164(1-2), 0–67.

Darwich, L., Segales, J., Domingo, M. & Mateu, E. (2002). Changes in CD4(+), CD8(+), CD4(+) CD8(+), and immunoglobulin M-positive peripheral blood mononuclear cells of postweaning multisystemic wasting syndrome-affected pigs and age-matched uninfected wasted and healthy pigs correlate with lesions and porcine circovirus type 2 load in lymphoid tissues. *Clin Diagn Lab Immunol*, 9(2), 236-42.

Dorr, Paul M., Baker, Rodney B., Almond, Glen W., Wayne, Spencer, R., Gebreyes, Wondwossen A. (2007). Epidemiologic assessment of porcine circovirus type 2 coinfection with other pathogens in swine. *J Am Vet Med Assoc*, 230(2), 244–250.

Dottori, M., Nigrelli, A.D., Bonilauri P., Merialdi G., Gozio S. & Cominotti F. (2007). *Large Animal Review*, 13, 161-165.

Drolet, R.; Larochelle, R.; Morin, M.; Delisle, B.; Magar, R. (2003). Detection Rates of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, Porcine Circovirus Type 2, and Swine Influenza Virus in Porcine Proliferative and Necrotizing Pneumonia *Vet Pathol*, 40(2), 143–148.

Drolet, R., Sylvie, D., Thomson, J. R. & Done, S. H. (1999). Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): an overview of the disease. *Journal of Swine Health and Production*, 7, 283-285.

Duan, X., Nauwynck, H. J. & Pensaert, M. B. (1997). Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet Microbiol*, 56(1-2), 9–19.

Dupont, K., Nielsen, E. O., Bækbo, P. & Larsen, L. E. (2008). Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case–control study supports a shift in genotypes with time. *Vet Microbiol*, 128(1-2), 56–64.

Dvorak, Cheryl M.T., Lilla, M. P., Baker, Seth R., Murtaugh, M. P. (2013). Multiple routes of porcine circovirus type 2 transmission to piglets in the presence of maternal immunity. *Vet Microbiol*, 166(3-4), 365–374.

Ellis, J., Hassard, L., Clark, E., Harding, J., Allan, G., Willson, P.,... Haines, D. (1998). Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can Vet J*, 39(1), 44-51.

Faurez, F., Dory, D., Grasland, B., & Jestin, A. (2009). Replication of porcine circoviruses. *Virol J*, 6(1), 60.

Fenaux, M., Opriessnig, T., Halbur, P. G., Elvinger, F. & Meng, X. J. (2004). A Chimeric Porcine Circovirus (PCV) with the Immunogenic Capsid Gene of the Pathogenic PCV Type 2 (PCV2) Cloned into the Genomic Backbone of the Nonpathogenic PCV1 Induces Protective Immunity against PCV2 Infection in Pigs. *J Virol*, 78(12), 6297–6303

- Fenaux, M., Opriessnig, T., Halbur, P. G. & Meng, X. J. (2003). Immunogenicity and Pathogenicity of Chimeric Infectious DNA Clones of Pathogenic Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) and Nonpathogenic PCV1 in Weanling Pigs. *J Virol*, 77(20), 11232–11243.
- Finsterbusch, T. & Mankertz, A. (2009). Porcine circoviruses—Small but powerful. *Virus Res*, 143(2), 177-183.
- Firth, C., Charleston, M. A., Duffy, S., Shapiro, B. & Holmes, E. C. (2009). Insights into the Evolutionary History of an Emerging Livestock Pathogen: Porcine Circovirus 2. *J Virol*, 83(24), 12813–12821.
- Fort, M., Fernandes, L. T., Nofrarias, M., Díaz, I., Sibila, M., Pujols, J., ..., Segalés, J. (2009). Development of cell-mediated immunity to porcine circovirus type 2 (PCV2) in caesarean-derived, colostrum-deprived piglets. *Vet Immunol Immunopathol*, 129(1-2), 0–107.
- Fort, M., Sibila, M., Allepuz, A., Mateu, E., Roerink, F. & Segalés, J. (2008). Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and geographic origins. *Vaccine*, 26(8), 0–1071.
- Gagnon, C. A., Tremblay, D., Tijssen, P., Venne, M. H., Houde, A. & ELAHI, S. M. (2007). The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *Can Vet J*, 39(1), 44-51.
- Ge, X., Wang F., Guo, X. & Yang, H. (2012). Porcine circovirus type 2 and its associated diseases in China. *Virus Res*, 164(1-2), 100–106.
- Grau-Roma, L. & Segalés, J. (2007). Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, swine influenza virus and Aujeszky's disease virus in cases of porcine proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) in Spain. *Vet microbiol*, 119(2-4), 144–151.
- Guo, L., Lu, Y., Wei, Y., Huang, L., Wu, H. & Liu, C. (2011). Porcine circovirus genotype 2a (PCV2a) and genotype 2b (PCV2b) recombinant mutants showed

significantly enhanced viral replication and altered antigenicity *in vitro*. *Virology*, 419(2), 57–63.

Guo, J., Hou, L., Zhou, J., Wang, D., Cui, Y., Feng, X., & Liu, J. (2022). Porcine Circovirus Type 2 Vaccines: Commercial Application and Research Advances. *Viruses*, 14(9).

Haesebrouck, F., Chiers, K., Van Overbeke, I. & Ducatelle, R. (1997). Actinobacillus pleuropneumoniae infections in pigs: the role of virulence factors in pathogenesis and protection. *Vet microbiol*, 58(2-4), 239–249.

Haimi-Hakala, M., Hälli, O., Laurila, T., Raunio-Saarnisto, M., Nokireki, T., Laine, T.,... Heinonen, M. (2017). Etiology of acute respiratory disease in fattening pigs in Finland. *Porcine Health Management*, 3(1), 19.

Hamel, A. L., Lin, L. L. & Nayar, G. P. (1998). Nucleotide Sequence of Porcine Circovirus Associated with Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome in Pigs. *J Virol*, 72(6), 5262–5267

Han, J., Zhang, S., Zhang, Y., Chen, M. & Lv, Y. (2017). Porcine circovirus type 2 increases interleukin-1beta and interleukin-10 production via the MyD88–NF-kappa B signaling pathway in porcine alveolar macrophages *in vitro*. *J Vet Sci*, 18(2), 183–191.

Harding, J. C., Ladinig, A., Novakovic, P., Detmer, S. E., Wilkinson, J. M., Yang, T.,... Plastow, G. S. (2017). Novel insights into host responses and reproductive pathophysiology of porcine reproductive and respiratory syndrome caused by PRRSV-2. *Vet Microbiol*, 209, 114-123.

Harding, J. C., S., Baker, C. D., Tumber, A., McIntosh, K. A., Parker, S. E., Middleton, D. M....., Krakowka, S. (2008). Porcine Circovirus-2 DNA Concentration Distinguishes Wasting from Nonwasting Pigs and is Correlated with Lesion Distribution, Severity, and Nucleocapsid Staining Intensity. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(3), 274–282.

Harms, P. A., Sorden, S. D., Halbur, P. G., Bolin, S. R., Lager, K. M., Morozov, I., Paul, P. S. (2001). Experimental Reproduction of Severe Disease in CD/CD Pigs

Concurrently Infected with Type 2 Porcine Circovirus and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Vet Pathol*, 38(5), 528–539.

Henriques, A., Duarte, M., Fagulha T., Ramos, F., Barros, S., Luís, T., & Fevereiro, M., (2011). Molecular study of porcine circovirus type 2 circulating in Portugal. , 11(8), 2162–2172.

Hjulsager, C. K., L. Grau-Roma., M., Sibila, C., Enøe, L., Larsen, J., Segalés (2009). Inter-laboratory and inter-assay comparison on two real-time PCR techniques for quantification of PCV2 nucleic acid extracted from field samples. *Vet Microbiol*, 133(1-2), 172–178.

Holtkamp, DJ., Polson, DD., Torremorell, M., Morrison, Bob., Classen, M., Dyneah, Becton Lisa (2011). Terminology for classifying swine herds by porcine reproductive and respiratory syndrome virus status. *J Swine Health Prod*. 2011;19(1):44–56.

Huang, L., Renne, N. V., Liu, C. & Nauwynck, H. J. (2015). A sequence of basic residues in the porcine circovirus type 2 capsid protein is crucial for its co-expression and co-localization with the replication protein. *J Gen Virol*, 96, 3566-3576.

Jacobsen, B., Krueger, L., Seeliger, F., Bruegmann, M. & Segalés, J. & Baumgaertner, W. (2009). Retrospective study on the occurrence of porcine circovirus 2 infection and associated entities in Northern Germany. *Vet Microbiol*, 138(1-2), 27–33.

Jobert, J. L., Savoye, C., Cariolet, R., Kobisch, M. & Madec, F. (2000). Experimental aerosol transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to pigs. *Can J Vet Res*, 64(1), 21–26.

Johnson, C. S., Joo, H. S., Direksin, K., Yoon, K. J. & Choi, Y. K. (2002). Experimental in Utero Inoculation of Late-Term Swine Fetuses with Porcine Circovirus Type 2. *J Vet Diagn Invest*, 14(6), 507–512.

Kekarainen, T. (2014). Vacinas e evolução do PCV2. Acedido em 12 de Maio 2023 em https://www.3tres3.com.pt/artigos/vacinas-e-evoluc%C3%A3o-do-pcv2_8280/.

- Kim, J., Ha, Y., Jung, K., Choi, C. & Chae, C. (2004). Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can J Vet Res*, 68(3), 218–221.
- Krakovka, S., Ellis, J. A., McNeilly, F., Ringler, S., Rings, D. M. & Allan, G. (2001). Activation of the Immune System is the Pivotal Event in the Production of Wasting Disease in Pigs Infected with Porcine Circovirus-2 (PCV-2). *Vet Pathol*, 38(1), 31–42.
- Krakovka, S., Ellis, J. A., Meehan, B., Kennedy, S., McNeilly, F. & Allan, G. (2000). Viral Wasting Syndrome of Swine: Experimental Reproduction of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome in Gnotobiotic Swine by Coinfection with Porcine Circovirus 2 and Porcine Parvovirus. *Vet Pathol*, 37(3), 254–263.
- Kurmann, J., Sydler, T., Brugnera, E., Buergi, E., Haessig, M., Suter, M. & Sidler, X. (2011). Vaccination of Dams Increases Antibody Titer and Improves Growth Parameters in Finisher Pigs Subclinically Infected with Porcine Circovirus Type 2. *Clin Vaccine Immunol*, 18(10), 1644–1649.
- Lecann, P., Albina, E., Madec, F., Cariolet, R. & Jestin, A. (1997). Piglet wasting disease. *Vet Rec*, 141, 660.
- Lefebvre, D.J., Meerts, P., Costers, S., Misinzo, G., Barbé, F., Van Reeth, K. & Nauwynck, H.J. (2008). Increased porcine circovirus type 2 replication in porcine leukocytes in vitro and in vivo by concanavalin A stimulation. *Vet Microbiol*, 132(1-2), 74–86.
- Li, J., Yu, Q., Nie, X., Guo, X., Song, Q. & Li, H. (2012). Effects of porcine circovirus type 2 on expression of mRNA associated with endogenous antigen processing and presentation in pulmonary alveolar macrophages and circulating T lymphocytes in piglets. *Vet J*, 193(1), 199–205.
- Lin, C.M., Jeng, C. R., Chang, H.W., Guo, I.C., Huang, Y.L., Tsai, Y.C.,... , Pang, V.F. (2008). Characterization of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection in swine lymphocytes using mitogen-stimulated peripheral blood lymphocytes from healthy PCV2-carrier pigs. *Vet Immunol Immunopathol*, 124, 355-66.

- Liu, J., Zhu, Y., Chen, I., Lau, J., He, F., Lau, A.,... , Kwang, J. (2007). The ORF3 Protein of Porcine Circovirus Type 2 Interacts with Porcine Ubiquitin E3 Ligase Pirh2 and Facilitates p53 Expression in Viral Infection. *J Virol*, 81(17), 9560–9567.
- López-Soria, S., Grau-Roma, L. & Segalés, J. (2008). Epidemiología de la circovirosis porcina. *Suis*, 49, 14-23.
- Madec, F. & Kobisch, M. (1982). Bilan lésionnel des poumons de porcs charcutiers à l'abattoir. *Journées Rech. Porcine en France*, 14, 405–412.
- Madson, D. M. & Opriessnig, T. (2011). Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: disease, vertical transmission, diagnostics and vaccination. *Anim Health Res Rev*, 12(1), 47–65.
- Madson, D.M., Patterson, A.R., Ramamoorthy, S., Pal, N., Meng, X. J. & Opriessnig, T. (2009). Effect of natural or vaccine-induced porcine circovirus type 2 (PCV2) immunity on fetal infection after artificial insemination with PCV2 spiked semen. *Theriogenology*, 72(6), 0–754.
- Maes, D., Nauwynck, H., Rijsselaere, T., Mateusen, B., Vyt, P., de Kruif, A., Van Soom, A. (2008). Diseases in swine transmitted by artificial insemination: An overview. *Theriogenology*, 70(8), 1337–1345.
- Maes, D., Sibila, M., Kuhnert, P., Segalés, J., Haesebrouck, F. & Pieters, M. (2017). Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: Knowledge gaps for improved disease control. *Transbound Emerg Dis*, 65(1), 110-124.
- Martelli, P., Ferrari, L., Morganti, M., De Angelis, E., Bonilauri, P., Guazzetti, S.,... Borghetti, P. (2011). One dose of a porcine circovirus 2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Vet Microbiol*, 149(3-4), 339–351.
- Meng, X. J. (2013). Porcine Circovirus Type 2 (PCV2): Pathogenesis and Interaction with the Immune System. *Annu Rev Anim Biosci*, 1(1), 43–64.

- Misinzo, G., Delputte, P. L., Meerts, P., Lefebvre, D. J. & Nauwynck, H. J. (2006). Porcine Circovirus 2 Uses Heparan Sulfate and Chondroitin Sulfate B Glycosaminoglycans as Receptors for Its Attachment to Host Cells. *J Virol*, 80(7), 3487–3494.
- Misinzo, G., Delputte, P. L. & Nauwynck, H. J. (2008). Inhibition of Endosome-Lysosome System Acidification Enhances Porcine Circovirus 2 Infection of Porcine Epithelial Cells. *J Virol*, 82(3), 1128–1135.
- 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 J Vet Res*, 31, 837-839.
- Mukherjee, P., Karam, A., Barkalita, L., Borah, P., Chakraborty, A. K., Das, S.,... Sharma, I. (2018). Porcine Circovirus 2 in the North Eastern region of India: Disease prevalence and genetic variation among the isolates from areas of intensive pig rearing. *Acta Trop.*, 82, 166-172.
- Mukherjee, P., Milton, A. A., Karam, A., Chakraborty, A., Das, S., Puro, K.-U.,... & Sen, A. (2018). Porcine circovirus2 (PCV2): A review of disease profile and control. *Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases*, 39, 38.
- Nawynck, J., Hans , Conference: Zoetis - Lanzamiento nacional Suvaxyn Circo, Madrid, June 28th, 2018.
- Nawagitgul, P., Morozov, I., Bolin, S. R., Harms, P. A., Sorden, S. D. & Paul, P. S. (2000). Open reading frame 2 of porcine circovirus type 2 encodes a major capsid protein. *J Gen Virol*, 81 2281-2287.
- Neumann, E. J., Kliebenstein, J. B., Johnson, C. D., Mabry, J. W., Bush, E. J., Seitzinger, A. H... & Zimmerman, J. J. (2005). Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J Am Vet Med Assoc*, 227(3), 385–392.

Nielsen J., Vincent I.E.; Bøtner A., Ladekjær-Mikkelsen A. S., Allan G., Summerfield A. & McCullough K. C. (2003). Association of lymphopenia with porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Immunol Immunopathol*, 92(3-4), 97-111.

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*, 42, 551-553.

Olvera, A., Cortey, M. & Segalés, J. (2007). Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: Phylogeny and clonality. *Virology*, 357(2), 175–185.

Opriessnig, T., Fenaux, M., Yu, S., Evans, R. B, Cavanaugh, D, Gallup, J. M.,... & Halbur, P.G (2004). Effect of porcine parvovirus vaccination on the development of PMWS in segregated early weaned pigs coinfecting with type 2 porcine circovirus and porcine parvovirus. *Vet Microbiol*, 98(3-4), 209–220.

Opriessnig, T. & Langohr, I. (2013). Current State of Knowledge on Porcine Circovirus Type 2-Associated Lesions. *Vet Pathol*, 50(1), 23–38.

Opriessnig, T., Madson, D. M., Prickett, J. R., Kuhar, D., Lunney, J. K., Elsener, J. & Halbur, P. G. (2008). Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and PCV2 coinfection. *Vet microbiol*, 131(1-2), 103–114.

Opriessnig, T., Meng, X.-J. & Halbur, P. G. (2007). Porcine Circovirus Type 2-Associated Disease: Update on Current Terminology, Clinical Manifestations, Pathogenesis, Diagnosis, and Intervention Strategies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(6), 591–615.

Opriessnig, T., Patterson, A. R., Elsener, J., Meng, X. J. & Halbur, P. G. (2008). Influence of Maternal Antibodies on Efficacy of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Vaccination To Protect Pigs from Experimental Infection with PCV2. *Clin Vaccine Immunol*, 15(3), 397–401

- Opriessnig, T., Patterson, A. R., Madson, D. M., Pal, N., Ramamoorthy, S., Meng, X.-J. & Halbur, P. G. (2010). Comparison of the effectiveness of passive (dam) versus active (piglet) immunization against porcine circovirus type 2 (PCV2) and impact of passively derived PCV2 vaccine-induced immunity on vaccination. *Vet Microbiol*, 142(3-4), 177–183.
- Opriessnig, T., Thacker, E. L., Yu, S., Fenaux, M., Meng, X.-J. & Halbur, P. G. (2004). Experimental Reproduction of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome in Pigs by Dual Infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and Porcine Circovirus Type 2. *Vet Pathol*, 41(6), 624–640.
- Ostanello, F., M., Dottori, C., Gusmara, G., Leotti, V., Sala (2007). Pneumonia Disease Assessment using a Slaughterhouse Lung-Scoring Method. *J Vet Med*, 54(2), 70–75.
- Pan, Y., Li, P., Jia, R., Wang, M., Yin, Z. & Cheng, A. (2018). Regulation of Apoptosis During Porcine Circovirus Type 2 Infection. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2086.
- Park, C., Seo, H. W., Han, K. & Chae, C. (2014). Comparison of Four Commercial One-Dose Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Vaccines Administered to Pigs Challenged with PCV2 and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus at 17 Weeks Postvaccination To Control Porcine Respiratory Disease Complex under Korean Field Conditions. *Clin Vaccine Immunol*, 21(3), 399–406
- Patterson, A. R., Ramamoorthy, S., Madson, D. M., Meng, X. J., Halbur, P. G. & Opriessnig, T. (2011). Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after experimental infection. *Vet Microbiol*, 149(1-2), 91–98.
- Pejsak, Z., Podgórska, K., Truszczyński, M., Karbowski, P. & Stadejek, T. (2010). Efficacy of different protocols of vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) in a farm affected by postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 33(6), e1-e5.
- Phaneuf, L. R., Ceccarelli, A., Laing, J. R., Moloo, B. & Turner, P. V. (2007). Porcine dermatitis and nephropathy syndrome associated with porcine circovirus 2 infection in a Yorkshire pig. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 46(3), 68-72.

Plotkin, S. A. (2008). Vaccines: correlates of vaccine-induced immunity. *Clin Infect Dis*, 47(3), 401-409.

Podgórska, K., & Stadejek, T. (2016). Challenges in diagnosis of PRRS. Acedido em 10 de Maio de 2016 em https://www.3tres3.com.pt/artigos/desafios-no-diagnostico-de-prrsv_9468/.

Prickett, J., Simer, R., Christopher-Hennings, J., Yoon, K. J., Evans, R. B. & Zimmerman, J. J. (2008). Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid samples: a longitudinal study under experimental conditions. *J Vet Diagn Invest*, 20(2), 156-63.

Qi, W., Zhu, R., Bao, C., Xiao, J., Liu, B., Sun, M.,... & Lei, L. (2019). Porcine circovirus type 2 promotes *Actinobacillus pleuropneumoniae* survival during coinfection of porcine alveolar macrophages by inhibiting ROS production. *Vet Microbiol*, 233, 93-101.

Rodriguez-Carino, C. & Segalés, J. (2009). Ultrastructural findings in lymph nodes from pigs suffering from naturally occurring postweaning multisystemic wasting syndrome. *Vet Pathol*, 46(4), 729-735.

Rossow, K. D., Morrison, R. B., Goyal, S. M., Singh, G. S. & Collins, J. E. (1994). Lymph node lesions in neonatal pigs congenitally exposed to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Vet Diagn Invest*, 6(3), 368-371.

Rovira, A. (2002). Determination of cell types that support PCV2 replication in pigs with PMWS. In Proceedings of the 17th IPVS Congress, Ames, Iowa.

Rovira, A., Balash, M., Segalés, J., Garcia, L., Plana-Duran, J., Rosell, C.,... & Domingo, M. (2002). Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. *J Virol*, 76(7), 232-3239.

Rowland, R. R. (2010). The interaction between PRRSV and the late gestation pig fetus. *Virus Res*, 154(1), 114-122.

Sanchez, R., Meerts, P., Nauwynck, H. & Pensaert, M. (2003). Change of porcine circovirus 2 target cells in pigs during development from fetal to early postnatal life. *Vet microbiol*, 95(1-2), 15-25.

Sanchez Jr, R. E., Nauwynck, H. J., Mcneilly, F., Allan, G. M. & Pensaert, M. B. (2001). Porcine circovirus 2 infection in swine foetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet Microbiol*, 83(2), 169-176.

Sarli, G., Mandrioli, L., Laurenti, M., Sidoli, L., Cerati, C., Rolla, G. & Marcato, P. S. (2001). Immunohistochemical characterisation of the lymph node reaction in pig post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Immunol Immunopathol*, 83(1-2), 53-67.

Segalés, J. (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Res*, 164(1-2), 10-19.

Segalés, J. (2012a). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Res*, 164(1-2), 10-19.

Segalés, J. (2012b). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Res*, 164(1-2), 10-19.

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). *Vet Microbiol*, 111(3-4), 223-229.

Segalés, J. & Domingo M. (2002). Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs: a review. *Veterinary Quarterly*, 24(3), 109-124.

Segalés, J., Olvera, A., Grau-Roma, L., Charreyre, C., Nauwynck, H., Larsen, L.,... & Allan, G. (2008). PCV-2 genotype definition and nomenclature. *Vet Rec*, 62(26), 867-868.

Segalés, J., Piella, J., Marco, E., Mateu-De-Antonio, E., Espuña, E. & Domingo, M. (1998). Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Spain. *Vet Rec*, 142(18), 483-486.

Segalés, J., Rosell, C. & Domingo, M. (2004). Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet Microbiol*, 98(2), 137-149.

Seo, H. W., Han, K., Oh, Y., Park, C. & Chae, C. (2012). Efficacy of a reformulated inactivated chimeric PCV1-2 vaccine based on clinical, virological, pathological and immunological examination under field conditions. *Vaccine*, 30(47), 6671-6677.

Seo, H. W., Lee, J., Han, K., Park, C. & Chae, C. (2014). Comparative analyses of humoral and cell-mediated immune responses upon vaccination with different commercially available single-dose porcine circovirus type 2 vaccines. *Res Vet Sci*, 97(1), 38-42.

Shibahara, T., Sato, K., Ishikawa, Y. & Kadota, K. (2000). Porcine circovirus induces B lymphocyte depletion in pigs with wasting disease syndrome. *J Vet Med Sci*, 62(11), 1125-1131.

Sibila, M., & Segalés, J. (2013). Co-infecção e vacinação combinada contra o PCV2 e *Mycoplasma hyopneumoniae*. Acedido em 11 Maio 2023 em https://www.3tres3.com.pt/artigos/coinfec%C3%A7%C3%A3o-e-vacinac%C3%A3o-contra-pcv2-e-mycoplasma-hyopneumoniae_6744/.

Sinha, A., Shen, H. G., Schalk, S., Beach, N. M., Huang, Y. W., Meng, X. J.,... & Opriessnig, T. (2011). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) influences infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) subtypes PCV2a and PCV2b by prolonging PCV2 viremia and shedding. *Vet Microbiol*, 152(3-4), 235-246.

Sorden, S. D. (2000). Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health Prod*, 8(3), 133-136.

Szeredi, L. & Szentirmai, C. (2008). Proliferative and necrotising pneumonia and severe vascular lesions in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2. *Acta Vet Hung*, 56(1), 101-109.

Thacker, E. L., Halbur, P. G., Ross, R. F., Thanawongnuwech, R. & Thacker, B. J. (1999). Mycoplasma hyopneumoniae potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. *J Clin Microbiol*, 37(3), 620-627.

Thanawongnuwech, R., Thacker, E. L. & Halbur, P. G. (1997). Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) (isolate ATCC VR-2385) infection on bactericidal activity of porcine pulmonary intravascular macrophages (PIMs): in vitro comparisons with pulmonary alveolar macrophages (PAMs). *Vet Immunol Immunopathol*, 59(3-4), 323-335.

Ticó, G., Segalés, J. & Martínez, J. (2013). The blurred border between porcine circovirus type 2-systemic disease and porcine respiratory disease complex. *Vet Microbiol*, 163(3-4), 242-247.

Tischer, I., Peters, D., Rasch, R. & Pociuli, S. (1987). Replication of porcine circovirus: induction by glucosamine and cell cycle dependence. *Arch Virol*, 96(1-2), 39-57.

Togashi, K., Mawatari, T., Mitobe, S. & Moriya, S. (2011). Reproductive losses associated with porcine circovirus type 2 in a Japanese herd of seronegative sows. *J Vet Med Sci*, 3(7), 941-944.

Thomson, J. R., Higgins, R. J., Smith W. J., Done, S. H. (2002). Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome. Clinical and Pathological Features of Cases in the United Kingdom (1993–1998). *J Vet Med*, 49(8), 430–437.

Tsai, Y.-C., Chang, H.-W., Jeng, C.-R., Lin, T.-L., Lin, C.-M., Wan, C.-H. & Pang, V. F. (2012). The effect of infection order of porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on dually infected swine alveolar macrophages. *BMC Vet Res*, 8, 174.

Wang, L., Qin, W., Ruidong, Z., Liu, S., Zhang, H., Sun, C.,... & Lei, L. (2015). Differential gene expression profiling of *Actinobacillus pleuropneumoniae* during

induction of primary alveolar macrophage apoptosis in piglets. *Microb Pathog*, 78, 74-86.

Wei, R., Van Renne, N. & Nauwynck, H. J. (2019). Strain-Dependent Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Entry and Replication in T-Lymphoblasts. *Viruses*, 11(9), 813.

West, K. H., Bystrom, J. M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobson, M., Allan, G. M.,... & Ellis, J. A. (1999). Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *J Vet Diagn Invest*, 11(6), 530-532.

Yu, S., Halbur, P. G. & Thacker, E. (2009). Effect of porcine circovirus type 2 infection and replication on activated porcine peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Vet Immunol Immunopathol*, 127(3-4), 350-356.

Zhang, Y., Zhang, X., Cheng, A., Wang, M., Yin, Z., Huang, J. & Jia, R. (2020). Apoptosis Triggered by ORF3 Proteins of the *Circoviridae* Family. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 10

Zimmerman, J., Benfield, D., Murtaugh, M., Osorio, F., Stevenson, G. & Torremorell, M. (2013). Virus (Porcine Arterivirus). *Diseases of Swine*, 387.

ANEXOS

Anexo A – Tabelas citadas no trabalho

Tabela 8 – Características das vacinas contra PCV2 mais utilizadas a nível mundial. Adaptado de (Mukherjee et al., 2018)

Company	Vaccine	Antigen	Licensed for	Admin-dosage	Geographical availability
Merial	Circovac	Inactivated PCV2a	Sows/ Gilts	2ml	Worldwide; not licensed in the USA
			Pigs	0.5ml	Worldwide
Boehringer Ingelheim	Ingelvac Circo FLEX	PCV2a Cap protein	Pigs	1ml	Worldwide
MSD/Merck Animal Health	Porcilis PCV	PCV2a Cap protein	Pigs	2ml	Europe, several South- and Central-American and Asian countries
	Circumvent TM PCV	PCV2a Cap protein	Pigs	2ml	North-America, several South- and Central-American and Asian countries
	Circumvent G2 PCV	PCV2a Cap protein	Pigs	1(2) or 2ml	USA and Canada
Zoetis	Suvaxyn PCV	Inactivated recombinant PCV1 expressing the PCV2a Cap protein	Pigs	2ml	Europe, several Asian countries
	Foster TM PCV ^{Gold}	Inactivated recombinant PCV1 expressing the PCV2a Cap protein	Pigs	1(2) or 2ml	North-America, South Africa, several Asian countries

João Nuno Amaro de Oliveira Vieira
Circovírus tipo 2: Estudo Vacinal Comparativo

Tabela 9 – Medicação administrada na recria (Porcilis PCV e Circoflex)

Qtd. de animais	Nome do medicamento	Natureza do tratamento	Dosagem	I.S.	Via
Porcilis PCV					
Todos do desmame sem 37	Porcilis PCV 100DS	Prevenção de vírus do PCV2	0,2ml	0	ID
Todos do desmame sem 37	M + Pack P1 50 doses	Prevenção de micoplasmose	2ml	0	IM
Todos do desmame sem 38	Porcilis PCV 100DS	Prevenção de vírus do PCV2	0,2ml	0	ID
Todos do desmame sem 38	M + Pack P1 50 doses	Prevenção de micoplasmose	2ml	0	IM
22	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
6	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
10	Niglumine 250	Redução da inflamação	2ml/45kg	20	IM
26	Polivit ADE3E 100	Avitaminose	7ml/100kg	0	IM
7	Draxxin 100mg/ml 100ml	Patologia respiratória	1ml/40kg	13	IM
2	Vetrimoxin LA 250	Tratamento de mening/artrites	1ml/10kg	12	IM
3	Vetrimoxin LA 250	Tratamento de mening/artrites	1ml/10kg	12	IM
5	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
Circoflex					
Todos do desmame sem 37	Ingelvac Circoflex 100/100	Prevenção de vírus do PCV2	1ml	0	IM
Todos do desmame sem 37	M + Pack P1 50 doses	Prevenção de micoplasmose	2ml	0	IM
Todos do desmame sem 38	Ingelvac Circoflex 100/100	Prevenção de vírus do PCV2	1ml	0	IM
Todos do desmame sem 38	M + Pack P1 50 doses	Prevenção de micoplasmose	2ml	0	IM
7	Polivit ADE3E 100	Avitaminose	7ml/100kg	0	IM
12	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
7	Vetrimoxin LA 250	Tratamento de mening/artrites	1ml/10kg	12	IM
3	Vetrimoxin LA 250	Tratamento de mening/artrites	1ml/10kg	12	IM
7	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
3	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
13	Vetrimoxin LA 250	Tratamento de mening/artrites	1ml/10kg	12	IM
10	Niglumine 250	Redução da inflamação	2ml/45kg	20	IM
7	Vetrimoxin LA 250	Tratamento de mening/artrites	1ml/10kg	12	IM
4	Polivit ADE3# 100	Avitaminose	7ml/100kg	0	IM
3	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM

João Nuno Amaro de Oliveira Vieira
Circovírus tipo 2: Estudo Vacinal Comparativo

Tabela 10 – Medicação administrada na engorda (Porcilis PCV e Circoflex)

Qtd. de animais	Nome do medicamento	Natureza do tratamento	Dosagem	I.S.	Via de aplicação
Porcilis PCV					
Todos	Stabox	Prevenção de mening/artrites	5kg/ton	4	PO
Todos	Porcilis Begonia Unis 10*50DS	Prevenção de vírus de Aujeszky	2ml	0	IM
Todos	Flubenol Premix	Desparasitação	0,35kg/ton	5	PO
13	Tenaline LA 250ml	Patologia respiratória	1ml/10kg	16	IM
17	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
6	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
2	Polivit ADE3E 100	Avitaminose	7ml/100kg	0	IM
Todos	Porcilis Begonia Unis 10*50DS	Prevenção de vírus Aujeszky	2ml	0	IM
3	Draxxin 100mg/ml 100ml	Patologia respiratória	1ml/40kg	13	IM
8	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM
Circoflex					
Todos	Stabox	Prevenção de mening/artrites	5kg/ton	4	PO
6	Polivit ADE3E 100	Avitaminose	7ml/100kg	0	IM
Todos	Porcilis Begonia Unis 10*50DS	Prevenção de vírus Aujeszky	2ml	0	IM
Todos	Flubenol Premix	Desparasitação	0,35kg/ton	5	PO
5	Vetrimoxin LA 250	Tratamento de mening/artrites	1ml/10kg	12	IM
9	Tenaline LA 250ml	Patologia respiratória	1ml/10kg	16	IM
Todos	Porcilis Begonia Unis 10*50DS	Prevenção de vírus de Aujeszky	2ml	0	IM
5	Draxxin 100mg/ml 100ml	Patologia respiratória	1ml/40kg	13	IM
5	Niglumine 250	Redução da inflamação	2ml/45kg	20	IM
7	Cenmicin-LC 250ml	Patologia entérica	1ml/10kg	21	IM