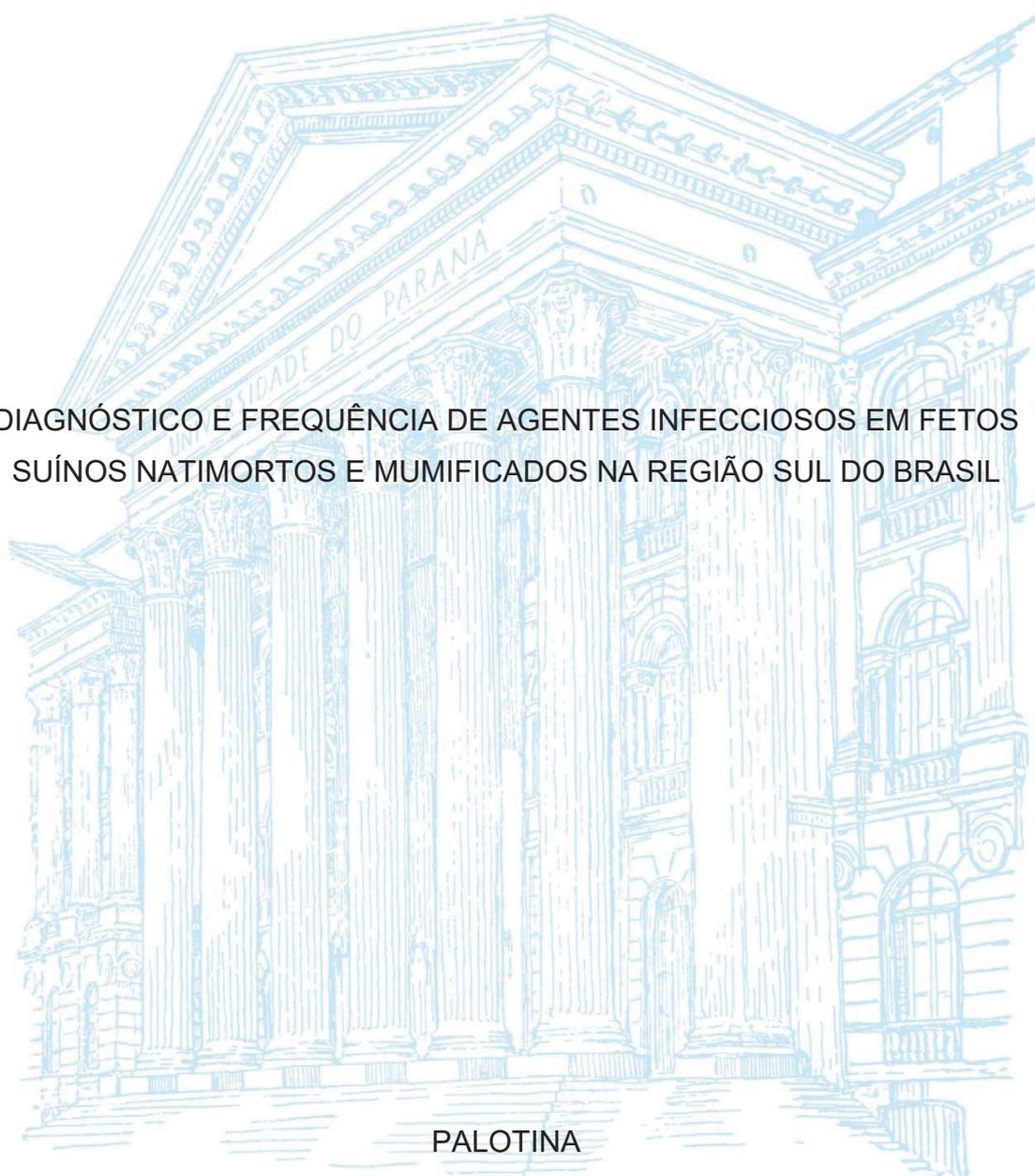


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GLACI ADELIA KASPER ERTEL

DIAGNÓSTICO E FREQUÊNCIA DE AGENTES INFECCIOSOS EM FETOS
SUÍNOS NATIMORTOS E MUMIFICADOS NA REGIÃO SUL DO BRASIL



PALOTINA

2022

GLACI ADELIA KASPER ERTEL

DIAGNÓSTICO E FREQUÊNCIA DE AGENTES INFECCIOSOS EM FETOS
SUÍNOS NATIMORTOS E MUMIFICADOS NA REGIÃO SUL DO BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde Animal, linha de pesquisa Patologia Animal, Setor Palotina - Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Camilo Alberton

PALOTINA

2022

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas. Biblioteca
UFPR Palotina.

E73 Ertel, Glaci Adelia Kasper
Diagnóstico e frequência de agentes infecciosos em fetos suínos
natimortos e mumificados na Região Sul do Brasil. – Palotina, PR, 2022.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Camilo Alberton.

1. Reprodução animal. 2. Histopatologia. 3. Suínos.
I. Alberton, Geraldo Camilo. II. Universidade Federal do Paraná.
III. Título.

CDU 636.4

Bibliotecária: Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL 40001016077P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIA ANIMAL da

Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **GLACI ADELIA**

KASPER ERTEL intitulada: **Diagnóstico e frequência de agentes infecciosos em fetos suínos natimortos e mumificados na Região Sul do Brasil**, sob orientação do Prof. Dr. GERALDO CAMILO ALBERTON, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 10 de Junho de 2022.

Assinatura Eletrônica

22/06/2022 08:54:10.0

GERALDO CAMILO ALBERTON

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

22/06/2022 08:41:44.0

RAQUEL DE ARRUDA LEME

Avaliador Externo (DECHRA BRASIL PRODUTOS VETERINÁRIOS)

Assinatura Eletrônica

27/06/2022 08:59:04.0

DAIANE GULLICH DONIN

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

R. Pioneiro, 2153 - PALOTINA - Paraná - Brasil
CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8529 - E-mail: ppgca.ufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 198931

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 198931

DEDICATÓRIA

Dedico a realização e a
finalização deste trabalho aos meus pais
que sempre me incentivaram a
trilhar novos caminhos na busca pelos sonhos!

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer à Deus, pelo dom da vida e a possibilidade de estar realizando este Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal junto à Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina.

À toda minha Família, que sempre me apoiou e incentivou durante a realização dos meus sonhos. Ao meu Marido Fernando Ertel, pelo apoio e companheirismo durante esta jornada de conhecimento e grandes desafios.

Ao meu orientador, Dr. Geraldo Camilo Alberton por sempre se fazer presente quando necessário me auxiliando no desenvolvimento deste projeto.

À toda a equipe do Laboratório Cedisa responsável pelas coletas de material e análise das amostras.

À equipe técnica da Boehringer Ingelheim, Luciana Hernig, Ricardo Tesche Lippke e Angelica de Paula Teixeira por estarem próximos e proporcionarem que esse sonho se tornasse realidade fornecendo suporte técnico e incentivo à pesquisa científica.

Não menos importante gostaria de agradecer a todos os colegas médicos veterinários, que abriram as portas de suas granjas para podermos coletar as amostras e realizar todo este projeto, meus sinceros agradecimentos.

À Copacol Cooperativa Consolata, por proporcionar a realização deste trabalho e auxílio da equipe técnica, bem como a possibilidade de condução do mestrado de maneira conjunta ao meu cargo de Sanitarista de Terminações.

À Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela realização de mais este sonho em realizar o Mestrado. Aos professores Sérgio Fernandes e Raphael pelo auxílio na parte estatística do projeto e condução da análise. A todos muito obrigada!

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Glaci Adelia Kasper Ertel é formada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná – UFPR, Setor Palotina, graduação efetivada no ano de 2017 onde integrou o Grupo de Estudos em Suinocultura - PROSSUI e desempenhou atividades de experimentação junto ao Laboratório de Sanidade Suína – LABSUI.

Realizou seu Estágio Curricular Obrigatório na Companhia BRF – Brasil Foods S.A., na sequência desempenhou suas atividades como colaboradora e extensionista em suinocultura junto a Empresa Frigorífico Rainha da Paz sediada em Toledo, e atualmente atua como Médica Veterinária Sanitarista de Terminações na Cooperativa Consolata Copacol sediada em Cafelândia – PR.

Adentrou ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal no ano de 2020-2022, sob orientação do Professor Dr. Geraldo Camilo Alberton na linha de pesquisa em Patologia Animal. Futuramente almeja também dar continuidade ao Programa de Doutorado com objetivo de atuar na transmissão de conhecimento técnico e prático, seja através de consultoria técnica e/ou aulas.

“O que precisamos é de mais pessoas especializadas no impossível”
(Theodore Roethke)

RESUMO

Os problemas reprodutivos em fêmeas são uma das principais causas de descarte em plantéis suínos. Estes podem ser divididos em causas não infecciosas e infecciosas e podem acarretar mortalidade total ou parcial dos conceptos. No caso de morte de toda leitegada, as fêmeas apresentam retorno ao estro, abortamento ou falsa prenhez. Já a mortalidade parcial leva ao nascimento de fetos mumificados e/ou natimortos ao parto, juntamente com leitões vivos. Fatores exógenos, como a infertilidade sazonal e aspectos nutricionais, e fatores endógenos, como o aumento da taxa de ovulação não acompanhado do aumento da capacidade uterina e o desenvolvimento embrionário assíncrono, estão entre as principais causas de mortalidade embrionária não infecciosas. Quanto às causas infecciosas, os principais agentes associados a falhas reprodutivas em suínos são Circovírus Suíno tipo 2 (PCV2), Circovírus Suíno tipo 3 (PCV3), Parvovírus Suíno e a Leptospira. De forma a contribuir com os dados de prevalência destes agentes infecciosos, o presente trabalho objetivou realizar o diagnóstico e frequência dos principais agentes infecciosos em amostras fetais de granjas comerciais alocadas na região sul do Brasil. Foram coletados 158 fetos (88 mumificados, 70 natimortos pré-parto e um feto abortado) oriundos de 16 unidades produtoras de leitões. As amostras foram submetidas ao exame de PCR e, quando positivas, foram analisadas por meio de histopatologia. Dados referentes a fêmea (ordem de parto e número de nascidos totais) e aos fetos (dia gestacional provável da morte) foram coletados. Os dados foram correlacionados (Teste de Spearman), submetidos à regressão, para melhor detecção do modelo de análise e, posteriormente, as razões de chance foram calculadas para ocorrência dos agentes diagnosticados por meio de PCR. Oitenta e um (51,26%) e 58 (36,70%) das amostras foram positivas no PCR para PCV3 e PCV2, respectivamente. Entre estas, 28 (17,72%) foram positivas para ambos os agentes. Nenhuma amostra foi positiva para parvovírus e leptospira. Apenas sete (4,43%) amostras apresentaram lesão no exame histopatológico, sendo cinco amostras com lesão cardíaca e duas com lesão pulmonar. A variabilidade nas unidades de produção de leitões teve significância ($p < 0,0001$) para ocorrência de PCV2 e PCV3, sendo que houve maior razão de chance de ocorrência dos agentes em unidades de produção de leitões distintas.

Palavras-chave: falhas reprodutivas; PCV2; PCV3; suíno.

ABSTRACT

Reproductive failures in sows are one of the main causes of culling in swine herds. These may be divided into non-infectious and infectious causes and can lead to total or partial mortality of the concepts. In case of total litter mortality, the sows return to estrus or have an abortion. Mummified and/or stillborn fetuses along with living piglets at parturition are observed in case of partial mortality. Exogenous factors, such as seasonal infertility and nutritional aspects, and endogenous factors, such as an increase in ovulation rate not accompanied by an increase in uterine capacity and asynchronous embryonic development, are the main causes of non-infectious mortality. Concerning infectious causes, the main pathogens associated with reproductive failures in sows are Porcine Circovirus type 2 (PCV2), Porcine Circovirus type 3 (PCV3), Porcine Parvovirus and *Leptospira*. To contribute to the prevalence data of these agents, the present study aimed to investigate the occurrence of these in fetal samples of commercial herds located in the south region of Brazil. A total of 158 fetuses (88 mummified, 70 stillborn pre-partum and 1 aborted) from 12 piglet production units were collected. The samples were tested using PCR and, PCR-positive ones were analyzed by histopathology. Data concerning the sow (parity order and the total number of born) and the fetuses (probable day of death) were collected. Data were correlated (Spearman test), submitted to regression for better detection of the analysis model, and, later, odds ratios were calculated for the occurrence of the agents diagnosed through PCR. Eighty-one (51.26%) and 58 (36.70%) of samples were PCR-positive to PCV3 and PCV2, respectively, and 28 (17.72%) were PCR-positive for both agents. No samples were positive for parvovirus and *Leptospira*. Only seven (4.43%) samples had lesions in histopathology, of which five were cardiac lesions and two were lung lesions. The variability in the piglet production units was significant ($p < 0.0001$) for the occurrence of PCV2 and PCV3, and there is a higher odds ratio for the occurrence of the agents in different piglet production units.

Key-words: Reproductive failure; PCV2; PCV3; swine.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
CAPÍTULO I – PRINCIPAIS CAUSAS DE FALHAS REPRODUTIVAS EM SUÍNOS	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 ASPECTOS REPRODUTIVOS DA FÊMEA SUÍNA	13
2.2 FALHAS REPRODUTIVAS	14
2.3 CAUSAS INFECCIOSAS.....	19
2.3.1 Circovirose Suína Tipo 2 (PCV2) e Tipo 3 (PCV3)	19
2.3.2 Parvovirose Suína	27
2.3.3 Leptospirose Suína.....	30
3. REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO II – DIAGNÓSTICO E PREVALÊNCIA DOS PRINCIPAIS AGENTES INFECCIOSOS EM FETOS NATIMORTOS E MUMIFICADOS PROVINDOS DE GRANJAS COMERCIAIS DE SUÍNOS NO BRASIL	49
INTRODUCTION	51
MATERIAL AND METHODS	52
RESULTS	55
DISCUSSION	57
CONCLUSIONS	60
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERENCES	61

1. INTRODUÇÃO GERAL

A crescente demanda mundial por proteína de origem animal vem impulsionando os setores agrícolas e alimentício na busca por tecnologias e estratégias que visem melhorar a produtividade sem agredir o meio ambiente, garantindo assim o desenvolvimento econômico e sustentável do país (ABPA, 2021). Neste cenário, a produção de suínos se destaca quanto aos avanços genéticos incorporados às linhagens hiperprolíferas (ROSA et al., 2014).

O aumento no tamanho das leitegadas acarretou concomitantemente no aumento do número de fetos natimortos e mumificados (HANENBERG et al., 2001). A natimortalidade apresenta-se de 3-8% e a mortalidade pré-desmame geralmente tem sido superior a 10%, o que corresponde a um quinto (1/5) dos fetos formados ao final da gestação que não chegam nem a fase de desmame (VAN DER LENDE, KNOL & LEENHOUWERS, 2001).

A ocorrência da mortalidade fetal é considerada multifatorial (SILVA et al., 2016), podendo ser correlacionada com o manejo, alimentação e genética da matriz gestante, fatores ambientais, bem como com a presença de agentes infecciosos capazes de ocasionar falhas reprodutivas (PADILHA et al., 2017).

O número de leitões nascidos vivos e, conseqüentemente, o número de suínos destinados ao abate é impactado pelo aumento da mortalidade fetal. A realização de estudos epidemiológicos e o diagnóstico das causas infecciosas envolvendo a mortalidade fetal podem auxiliar no desenvolvimento de medidas eficientes de controle destes agentes, o que proporcionaria uma maior eficiência reprodutiva para o setor (SECCO; MOYA, 2021).

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é diagnosticar e avaliar o envolvimento dos principais agentes infecciosos na ocorrência de fetos natimortos e mumificados, visando estabelecer medidas de controle para a presença de falhas reprodutivas nos plantéis comerciais.

CAPÍTULO I – PRINCIPAIS CAUSAS DE FALHAS REPRODUTIVAS EM SUÍNOS

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS REPRODUTIVOS DA FÊMEA SUÍNA

A fisiologia do processo gestacional é caracterizada por sua complexidade e delicadeza e, portanto, requer uma série de fatores necessários à manutenção dos conceptos, dentre estes hormônios, fatores de crescimento, citocinas e receptores, possibilitando a sobrevivência dos mesmos (KRIDLI et al., 2020).

A gestação da fêmea suína tem duração média de 114 dias (MELLAGI et al., 2006), sendo que podem ocorrer partos entre o 110º e o 119º dias de gestação (MEREDITH, 1995; VANDERHAEGHE et al., 2011). A gestação é mantida principalmente pela ação da progesterona produzida pelos corpos lúteos (SHERWOOD, 1982). Até o 12º dia de gestação, os corpos lúteos são autônomos e produzem progesterona sem a necessidade de gonadotrofinas. Após esse período, os fatores luteotróficos são necessários e a produção de progesterona passa a ser regulada principalmente pelo hormônio luteotrófico (LH) (FIRST et al., 1982).

Para que haja a manutenção da gestação, os embriões sinalizam a sua existência (SPENCER et al., 2004) por meio da secreção de estrógeno no interior do útero. Esse evento, chamado reconhecimento materno da gestação promove direcionamento exócrino da prostaglandina F2alfa (PGF2 α) e ocupação dos receptores ovarianos pela prostaglandina E2 (PGE2), o que impede que haja luteólise (BAZER et al., 1982).

Próximo ao parto, a concentração de progesterona diminui e outros hormônios passam a atuar, como a relaxina, prolactina e ocitocina (FIRST et al., 1982). Os fetos são responsáveis pelo desencadeamento do parto, devido a produção de altos níveis de cortisol 24 horas antes do mesmo. Este evento é responsável por desencadear o redirecionamento endócrino de PGF2 α , liberação dos receptores ovarianos, além da alteração de padrão de secreção do LH (SENGER, 2012). Nessa fase, há conversão de progesterona em estrógeno, sendo esse o hormônio regulador do parto, responsável por promover contração miometrial e aumento da secreção de PGF2 α pelo trato reprodutivo (SENGER, 2012).

Tradicionalmente, divide-se o período gestacional da fêmea suína em três terços. No primeiro terço, observam-se vários eventos de importância, como a ligação embrio-maternal, o processo de formação da placenta (até os 21 dias de gestação) e, ao final desta fase (próximo dos 35 dias de gestação), o embrião passa a ser denominado como feto, devido ao processo de ossificação (MCPHERSON et al., 2004; SENGER, 2012).

O segundo terço da gestação caracteriza-se pelo desenvolvimento de estruturas do feto, como a formação de órgãos e das fibras musculares, sendo este associado a um amplo crescimento deste, desde que haja o correto aporte nutricional e respiratório.

A fase final da gestação está associada ao término do desenvolvimento de estruturas, como é o caso da definição do número de fibras musculares, que ocorre até os 90 dias de gestação (WIGMORE; STICKLAND, 1983; LEFAUCHEUR et al., 2002). Nos últimos dias de gestação ocorre o maior ganho de peso (WU et al., 1999) e término da maturação fetal.

O desenvolvimento dos fetos tem relação direta com a eficiência placentária e capacidade uterina da fêmea. Estes necessitam de aporte nutricional adequado, além de oxigenação (WU et al., 2006). O efeito da capacidade uterina é visto principalmente após o segundo terço de gestação (BAZER et al., 2009). A placenta dos suínos caracteriza-se como epiteliocorial difusa, pregueada, indecídua e provida de áreas especializadas e denominadas aréolas, localizadas nas aberturas das glândulas uterinas (MIGLINO et al., 2001).

2.2 FALHAS REPRODUTIVAS

A falha de manutenção da prenhez pode ser considerada como a principal causa de descarte nos plantéis produtivos, estando relacionada a fatores não infecciosos e/ou infecciosos. Pode-se atribuir 30 a 40% destas a agentes patogênicos e 60 a 70% a fatores não infecciosos (MORÉS et al., 2011; LEFEBVRE, 2015). De acordo com Pieroni (2013), a mortalidade fetal é responsável pela perda de, pelo menos, um leitão desmamado/fêmea/ano, apresentando importância substancial para a produção de suínos.

As falhas reprodutivas podem acarretar na perda total ou parcial dos leitões. Logo, a mortalidade embrionária pode atingir de 20 a 30% dos óvulos liberados, sendo responsável pela maior proporção das perdas pré-natais. Todavia, a mortalidade fetal

também pode assumir um papel relevante (5-15%) podendo ser mais elevada em matrizes com maior taxa ovulatória (BERNARDI, BORTOLOZZO & WENTZ, 2006).

A mortalidade embrionária poderá ocorrer no primeiro terço gestacional, sendo os embriões reabsorvidos pelo útero gravídico em consequência de fatores fisiológicos e infecciosos acarretando em retorno ao estro com intervalo irregular (PADILHA et al., 2017). A maior mortalidade do período gestacional está concentrada nesta fase, sendo que apenas 10 a 20% das mortes ocorrem após os 40 dias de gestação (POPE; FIRST, 1985).

Neste caso, não é possível observar alterações ou presença de embriões mortos ao parto e, em alguns casos pode-se observar abortos. Apesar de ser descrito nessa fase inicial da prenhez, o abortamento pode ocorrer até próximo do período esperado de parto (antes dos 112 dias de gestação) e, é definido como a expulsão dos fetos mortos ou sem que haja sobrevivência destes por poucas horas após a interrupção da gestação (CHRISTIANSON, 1992).

Também no primeiro terço gestacional observam-se os retornos ao estro, podendo estes ser classificados como regular e irregular. O retorno regular consiste na ocorrência de estro no período esperado, conforme o ciclo estral, isto é, próximo aos 21 dias após a cobertura (MEREDITH, 1995). Em caso de retorno ao estro regular houve falha no processo de fecundação dos oócitos (TUMMARUK et al., 2001) estando relacionado a baixa qualidade das doses inseminantes (DI), incorreta realização da técnica de IA ou, ainda a existência de infecção prévia da fêmea, oriunda do parto anterior (metrites). O retorno ao estro irregular ocorre após a data esperada do ciclo estral, isto é, 21 dias depois da cobertura e se encontra diretamente relacionado a falhas no processo de reconhecimento materno da gestação (MEREDITH, 1995), bem como fatores infecciosos (PADILHA et al., 2017).

A partir da ossificação fetal, até os 90-100 dias de gestação, o concepto morto é denominado mumificado (MUM) (CHRISTIANSON, 1992). Na mumificação fetal há reabsorção de líquidos e tecidos moles (MEREDITH, 1995), mas a presença dos ossos impede que haja reabsorção total, podendo ser observado o feto mumificado ao parto (MUIRHEAD; ALEXANDER, 1997). Além de causas infecciosas, a presença de MUM está comumente associada a falhas no manejo dos animais, fatores nutricionais e ambientais (LEFEBVRE, 2015), além da capacidade uterina (PERE et al., 1997) e ocorrência de leitegadas grandes (BORGES et al., 2005). Os períodos críticos para mumificação fetal são logo após o término da fase embrionária, entre 35-

40 dias de gestação e no período intermediário, entre o 55-75 dias de gestação (VAN DER LENDE; VAN RENS, 2003).

Os fetos MUM apresentam aparência enegrecida e podem ter diferentes graus de desidratação (CHRISTIANSON, 1992). Ao parto, o tamanho das múmias pode ser relacionado ao momento da morte fetal (Tabela 1). Essa medição auxilia no processo de identificação de causas associadas a esse fenômeno. Para estimar em qual momento da gestação houve a morte, mede-se a distância da crista do occipital até a inserção da cauda da múmia (MUIRHEAD; ALEXANDER, 1997).

Tabela 1. Relação do tamanho dos fetos mumificados com a idade gestacional estimada em que ocorreu a morte fetal.

Tamanho dos fetos (mm)	Idade gestacional estimada (dias)
20	30
50	40
88	50
130	60
167	70
200	80
232	90
264	100
290	110

Fonte: MUIRHEAD; ALEXANDER, 1997 (adaptado)

Um aspecto importante a ser mencionado é que nem sempre os índices de mumificação fetal são corretamente avaliados em uma granja. Isso ocorre em razão das dificuldades relacionadas a observação das múmias em meio à placenta e devido à falta de treinamento dos tratadores para essa investigação. Dessa forma, o número de MUM pode ser facilmente subestimado quando da não avaliação da placenta como um todo após o parto (VAN DER LEND; VAN RENS, 2003).

O feto morto no final do último terço de gestação é denominado natimorto (NAT) (VAN DER LENDE; VAN RENS, 2003; PADILHA et al., 2017). A ocorrência de NAT é classificada de acordo com o momento da morte fetal. Quando a morte ocorre entre 90-100 dias até cerca de dois dias antes do parto, considera-se o NAT pré-parto ou tipo I. A morte fetal quando ocorre próxima ou durante o parto é classificada como NAT intra-parto ou tipo II e, quando ocorre após o parto, é classificada como NAT pós-parto ou tipo III (LEENHOUWERS et al., 1999).

O NAT pré-parto apresenta-se edemaciado, com início de autólise, córneas azuladas, cordão umbilical longo e autolisado, pele com coloração variando entre marrom a acinzentada e com presença de pelos pelo corpo (RANDALL, 1972; CHRISTENSEN, 1992). O NAT intra-parto tem aspecto semelhante ao leitão viável, porém, apresenta tecido cartilaginoso nos cascos, pulmões avermelhados e colabados e cordão umbilical longo e úmido ou rompido (CARR & WALTON, 1990; CHRISTENSEN, 1994; DAY, 1980). Os NAT pós-parto apresentam as características de leitões viáveis, incluindo presença de leite no estômago e pulmão inflado, por terem respirado, porém, a morte ocorre logo após o nascimento (CHRISTENSEN, 1994; MEREDITH, 1995).

A maior parte dos partos não apresentam MUM e NAT (BORGES et al., 2008). A taxa estabelecida como normal para uma granja de suínos é de 1,5% de MUM e <5-7% de NAT (DIAL et al., 1992; CHRISTIANSON, 1992; MUIRHEAD; ALEXANDER, 1997;). No entanto, levantamentos mais recentes verificaram aumento desses números, devido a fatores fisiológicos e infecciosos (BORGES et al., 2005; HERDT et al., 2019).

Dentre as diferentes classificações de NAT, observa-se maior ocorrência de NAT intra-parto em granjas comerciais (LEENHOUWERS et al., 1999). Isto se deve ao aumento do número de nascidos por parto, sendo mais comum em partos longos e distócicos. Nesses casos, o leitão sofre asfixia no canal do parto, que pode ocasionar a morte imediata ou a redução da viabilidade após o nascimento e, conseqüentemente, a menor chance de sobrevivência, favorecendo a natimortalidade pós-parto (HERPIN et al., 2001; ALONSO-SPILSBURY et al., 2005).

Outro fator a ser avaliado se refere a menor espessura de toucinho (inferior a 16 mm ao parto) e a ocorrência de um NAT em partos anteriores são considerados fatores de risco para esta falha reprodutiva (VANDERHAEGHE et al., 2010). Recentemente, a mesma foi correlacionada a duração do parto e a composição da

microbiota intestinal das fêmeas (WANG et al., 2019a). As intervenções obstétricas também são medidas que podem levar a presença de NAT ao parto (LUCIA JR et al., 2002). Um exemplo disso é o excesso de ocitocina exógena, oriunda da aplicação durante o parto, que promove aumento das contrações uterinas e, com isso, há aumento do risco de asfixia no canal do parto.

Dentre os principais fatores responsáveis por causar a mortalidade fetal pode-se citar a capacidade uterina, eficiência placentária, fatores ligados ao melhoramento genético, nutrição, falhas na manutenção da interface materno-fetal e ambiente inadequado (BORGES et al., 2005; KRIDL et al., 2016; ZHAO et al., 2020). Em decorrência do aumento das taxas de ovulação observou-se uma redução dos índices de sobrevivência durante os períodos pré-natal e pós-natal precoce impactando diretamente no atingimento de metas mais elevadas com relação ao número de desmamados/fêmea/ano (FREKING et al., 2007).

Quanto às causas infecciosas, o principal agente associado ao aumento da taxa de mumificação fetal é o parvovírus suíno tipo I (PPV1). No entanto, a parvovirose é uma doença controlada por meio da vacinação, sendo observados casos clínicos mais frequentemente quando da ocorrência de falha vacinal principalmente em fêmeas OP1 e marrãs (CHRISTIANSON, 1992).

Além do parvovírus, outros agentes virais são correlacionados aos transtornos reprodutivos, pois apresentam facilidade em atravessar a barreira placentária. Os principais são o vírus da peste suína clássica (CSFV), vírus da peste suína africana (ASFV), vírus da síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos (PRRSV), Influenza vírus A (SIV), picornavírus entéricos suínos (PEVs), vírus da encéfalo miocardite (EMCV) e herpesvírus suíno tipo 1 (PHV-1) (PENSAERT et al., 2004).

Recentemente postulado por Dal Santo e colaboradores (2020) foram identificadas amostras fetais positivas para PCV3 (97%) por meio da técnica de PCR, sendo que 93,1% apresentavam coinfeção com pelo menos 1 agente (PPV, PCV2 ou Lepto). Vargas-Bermudez et al. (2021) demonstraram a capacidade do circovírus suíno em atravessar a barreira placentária (transmissão vertical), estando a infecção intrauterina diretamente relacionada à ocorrência de falhas reprodutivas.

De modo geral, os aspectos relacionados às falhas reprodutivas apresentam um caráter dificultoso de diagnóstico, devido à complexidade e a abrangência multifatorial de seus agentes causadores (SILVA et al., 2014). Outro fator importante relacionado ao diagnóstico dos agentes infecciosos se refere à viabilidade de

amostras biológicas necessitando-se de uma coleta adequada e cuidados específicos no envio (PESCADOR et al., 2010). Isso inclui a manutenção das mesmas desde a coleta e transporte do material até o laboratório, desenvolvimento e a disponibilidade de técnicas diagnósticas, sendo este um aspecto fundamental a ser avaliado anteriormente ao envio das amostras.

2.3 CAUSAS INFECCIOSAS

2.3.1 Circovírus Suíno Tipo 2 (PCV2) e Tipo 3 (PCV3)

Mundialmente descrita, a circovirose suína pode causar diversas enfermidades economicamente significativas, conhecidas como Complexo das Doenças Associadas ao Circovírus Suíno (*porcine circovirus associated diseases* - PCVADs) ou Doenças do Circovírus Suíno (*porcine circovirus diseases* - PCVDs) (BEACH & MENG, 2012).

Os circovírus pertencem à família *Circoviridae* (SEGALÉS, ROSELL & DOMINGO, 2004) e são classificados em quatro diferentes espécies: circovírus suíno tipo 1 (PCV1; não patogênico), PCV2 (patogênico), PCV3 (patogênico) e PCV4 (recentemente descrito na China) (ZHANG et al., 2019a; OPRIESSNIG et al., 2020).

O agente causador da forma clássica da circovirose suína é o PCV2 caracterizado por sua alta patogenicidade e distribuição mundial (MORÉS et al., 2007), descrita como a Síndrome Multissistêmica do Definhamento dos Suínos (SMDS) (PHAN et al., 2016). Apesar de ser mais frequente, a SMDS nem sempre acontece em rebanhos positivos para o agente (LAROCHELLE, MAGAR & D'ALLAIRE, 2003).

Outras alterações clínicas relacionadas ao PCV2 são a Síndrome da Dermatite e Nefropatia dos Suínos (PDNS), falhas reprodutivas, participação no Complexo das Doenças Respiratórias dos suínos (*porcine respiratory disease complex* - PRDC) (OPRIESSNIG et al., 2011) e ocorrência de pneumonias necrotizantes e proliferativas (SÉGALES, ROSELL & DOMINGO, 2004).

A sintomatologia clínica descrita entre PCV2 e PCV3 apresentam grande similaridade, considerando-se a hipótese de que ambos participem na epidemiologia

da doença (WANG et al., 2019b). Alguns autores relatam a capacidade do PCV3 em exacerbar infecções concomitantes com PCV2 (PRINZ et al., 2019; AMOROSO et al., 2021) e PRRS, adquirindo assim um papel relevante na ocorrência de doenças clínicas e de grande impacto econômico na produção mundial (HA et al., 2020b).

Isso torna o cenário preocupante, devido ao impacto econômico mundial vivenciado nos anos 1990-2000 com a Circovirose Suína (DUTTON & LARSON, 2016). Dentre as manifestações clínicas descritas para o PCV3 incluem-se falhas reprodutivas (TAN et al., 2020), mortalidade de leitões e dermatite grave (SHEN et al., 2017), envolvimento em patologias cardíacas (OPRIESSNIG, 2007; TAN et al., 2020) e desenvolvimento de processos inflamatórios em leitões e matrizes, podendo estar associado à doença respiratória (TAN et al., 2020), entérica (PALINSKI et al., 2016; ZHAI et al., 2017), manifestações neurológicas (TAN et al., 2020), distúrbios na microbiota intestinal (HOU et al., 2020) e ocorrência de fetos natimortos e mumificados (DIAZ et al., 2020).

Atualmente, o PCV3 está envolvido em uma gama de manifestações clínicas, tornando-o de grande importância para a indústria de suínos devido a perdas econômicas substanciais (HA et al., 2020a).

O PCV'S são vírus não envelopados, genoma composto por molécula de DNA circular de fita simples (WANG, W. et al., 2019b; WALKER et al., 2018). Filogeneticamente, o PCV2 pode ser subdividido em diferentes genótipos (PCV2a – PCV2h) (SIDLER et al., 2020). Apesar de sua extensa variedade apenas o PCV2a, PCV2b e PCV2d são considerados globalmente importantes e disseminados (OPRIESSNIG et al., 2019).

O genoma viral do PCV3 é composto por cerca de 2000 pares de base, apresentando subdivisão em PCV3a, PCV3b e PCV3c (CHEN et al., 2019), tendo como ancestral comum os PCVs de morcegos (LI et al., 2018). O genoma viral tem sido descrito de acordo com suas fases abertas de leitura (ORFs), sendo a ORF1 responsável pela codificação das proteínas de replicação e a ORF2 pela proteína estrutural (LI et al., 2018). De acordo com Jiang et al. (2020a), a ORF1 codifica uma proteína de replicação de 35 KDa, que apresenta 48% de similaridade com PCV2, a ORF2 uma proteína de 25 KDa, exibindo 36-37% de igualdade comparado ao PCV2, e a ORF3 apresenta função desconhecida codificando uma proteína de 231 aminoácidos.

Estruturalmente, a proteína estrutural está relacionada ao desenvolvimento de imunidade protetora contra a infecção viral (JIANG et al., 2020a). Os circovírus são geograficamente distribuídos podendo afetar desde mamíferos, peixes, algumas espécies de aves e insetos como hospedeiros (OPRIESSNIG et al., 2020), bem como suínos domésticos e asselvajados, sendo estes considerados os principais reservatórios do vírus (ZHAI et al., 2019; GRASSI et al., 2020). Outras espécies, como cães, ruminantes, roedores, visons, raposas, guaxinins, moscas, carrapatos e mosquitos também podem ser infectadas pelo vírus, apresentando, em alguns casos, cepas de alto grau de similaridade com amostras provindas de suínos (WANG et al., 2019c; HA et al., 2020a).

Apesar dos estudos experimentais avançados, a reprodução da doença clínica oriunda do PCV3 só foi possível no ano de 2019, sendo descrita por Jiang e colaboradores (2019), mediante inoculação intranasal em leitões que desenvolveram sinais clínicos semelhantes à infecção por PCV2.

Estudos recentes confirmaram a circulação viral do PCV3 em países como Itália (FACCINI et al., 2017), China (ZHAI et al., 2017; SHEN et al., 2017), Rússia (YUZHAKOV et al., 2018), Coreia (KIM et al., 2018), Hungria (DEIM et al., 2019), Colômbia (BERMUDEZ et al., 2019) e Brasil (Cruz et al., 2020; Dal Santo et al., 2020; Rodrigues et al., 2020).

O PCV2 tem como importante característica afetar o sistema imune do animal ocasionando imunossupressão. Dessa forma, a ação do vírus é capaz de ser exacerbada em infecções concomitantes com *Mycoplasma hyopneumoniae* (OPRIESSNIG et al., 2019).

Existem relatos da transmissão intrauterina do vírus para fetos, sendo a circovirose suína uma das causas associadas a mortalidade fetal. O PCV2 pode afetar diferentes células alvo em fetos, sendo possível a detecção do antígeno viral em cardiomiócitos, hepatócitos e macrófagos (SANCHEZ et al., 2003). Em infecções pós-natal, verifica-se presença do antígeno viral apenas em macrófagos de diferentes órgãos, com titulação viral semelhante à de uma infecção fetal aos 90 dias de prenhez (SANCHEZ et al., 2003).

Fetos que sobrevivem à infecção intrauterina podem apresentar-se clinicamente normais após o nascimento, porém, por estarem virêmicos contribuem com a disseminação horizontal do agente dentro dos rebanhos comerciais (MADSON & OPRIESSNIG, 2011).

Pacini et al. (2021) evidenciaram a presença de PCV2 em fetos de suínos asselvajados (javalis) e demonstraram a similaridade genética do agente com outras cepas identificadas em espécies selvagens e domésticas. Fêmeas suínas gestantes inoculadas com PCV2 aos 57 e 75 dias de gestação apresentaram transmissão intrauterina do vírus, com conseqüente mortalidade e mumificação, mesmo na presença de anticorpos para o agente (PENSAERT et al., 2004).

Sidler et al. (2020) descreveram a infecção pelo PCV2 em células próximas aos órgãos reprodutivos de fetos natimortos e, ainda, mostraram a possibilidade de o vírus infectar embriões saudáveis a partir de três dias e meio de concepção.

Em um estudo com infecção experimental por PCV2 em fêmeas gestantes, verificou-se que o número de células infectadas foi maior aos 57 dias de gestação comparado à 75 e 92 dias, sendo este um período de multiplicação e formação dos principais órgãos. Por meio de amostras de tecido cardíaco dos fetos, detectou-se maior número de células positivas para o antígeno ($P < 0,005$), sendo estes distribuídos de maneira homogênea sobre o tecido e de tamanho variável (SANCHEZ et al., 2001).

Mesmo em casos de infecções por PCV2 apresentando diferentes manifestações clínicas a campo, causadas por diferentes genótipos (PCV2a e PCV2b), possibilitou-se produzir lesões patológicas aos 55 dias de gestação, quando realizada a inoculação experimental do agente em fetos, sendo detectada alta carga viral nos tecidos afetados (SAHA et al., 2010).

Para diagnosticar o envolvimento de PCV2 em casos de falhas reprodutivas, deve-se notar a ocorrência de abortamentos tardios e/ou natimortalidade, associada a presença de extensa miocardite fibrosante nos fetos natimortos (SEGALES et al., 2004). Estudos de prevalência para associação de agentes infecciosos e problemas reprodutivos encontraram o PCV2 em 29,1% (SILVA et al., 2014), 10,7% (CASTRO et al., 2012) e 50,3% (ROCHA et al., 2010) das amostras em granjas brasileiras. Dentre os estudos citados pode-se observar que para ambos o método de diagnóstico utilizado foi a técnica de PCR, no entanto obteve-se grande variação no número amostral e total de granjas coletadas podendo apresentar grande relevância no índice de prevalência detectado.

A capacidade do PCV3 em causar falhas reprodutivas em fêmeas suínas comerciais foi descrita por Vargas-Bermúdez et al. (2021) e, neste caso, níveis virais acima de 10^3 foram capazes de induzir manifestações clínicas, posteriormente as

cepas foram classificadas em grupo 1, sendo este com maior propensão ao desenvolvimento de falhas reprodutivas.

Estudos relacionados à avaliação histopatológica de fetos MUM e NAT descreveram a presença de severa miocardite (WEST et al., 1999) não supurativa, lesões de necrose e fibrose miocárdica, bem como focos de mineralização, corpúsculos de inclusão intranucleares em cardiomiócitos e infiltrados em macrófagos e linfócitos de células cardíacas (O'CONNOR et al., 2001; MIKAMI et al., 2005), sendo estes excelentes sítios de replicação viral. As principais lesões microscópicas descritas atualmente para o PCV3 encontram-se na Tabela 2 a seguir.

Tabela 2. Lesões microscópicas associadas à infecção por PCV3.

Técnica diagnóstica	Lesões	Referência
Histo + PCR + ISH	Miocardite não supurativa e arteriolite	PHAN et al., 2016
qPCR	Sem lesões histológicas	DEIM et al., 2019
PCR + ISH	Miocardite Linfocítica	ARRUDA et al, 2019
PCR + ISH	Miocardite e Perivasculite Sistêmica	DIAZ et al., 2020
Histopatologia Imunofluorescência	Deteção do vírus em músculo cardíaco e pulmões de ratos	JIANG et al., 2020a
Histopatologia	Necrose focal cardíaca	BERA et al., 2019
qPCR	Hipertrofia dos Vasos cardíacos	
Isolamento viral	Dermatite proliferativa	

Histo = histopatologia; PCR = reação em cadeia da polimerase; ISH = hibridização in situ
qPCR = PCR quantitativa.

De acordo com um estudo brasileiro conduzido no Estado do Mato Grosso em 2013 (SILVA et al., 2014) foram detectadas 4,1% (4) de amostras fetais apresentando lesões macroscópicas apenas, sendo que posteriormente foram diagnosticadas 10,4% (10) de lesões microscópicas, sendo estas descritas em moderada à severa miocardite não supurativa e necrose miocárdica com média fibrose. Logo, a ausência de lesões macroscópicas em fetos não exclui a participação de agentes infecciosos na ocorrência de falhas reprodutivas.

Associada a avaliação microscópica, a carga viral em tecidos de animais acometidos pode ser utilizada como parâmetro para o diagnóstico de PCVAD (SEGALES et al., 2004). Brunborg et al. (2007) verificaram que amostras providas de MUM e NAT apresentavam alta carga viral em tecidos como fígado, baço e miocárdio ($> 1 \times 10^7$ cópias genômicas/500 ng DNA). Em tecido cardíaco, a carga viral

foi mais alta ($>1 \times 10^5$ cópias genômicas/500 ng DNA) em amostras com lesões de miocardite do que em amostras sem lesões ($< 1 \times 10^5$ cópias genômicas/500 ng DNA).

Por meio da realização de um estudo *in vivo* Diaz et al. (2020) puderam demonstrar que mesmo os animais infectados experimentalmente (8 animais) permaneceram clinicamente normais, no entanto histologicamente foram detectadas lesões inflamatórias multi sistêmicas e periarterite sistêmica em 4/8 animais. Tais lesões foram caracterizadas como miocardite linfoplasmocitária e periarterite, mediante a confirmação do diagnóstico através da técnica de ISH com a presença do vírus em cardiomiócitos, na túnica média e células endoteliais das artérias.

No Brasil, foram confirmadas amostras positivas para PCV3, provenientes de matrizes suínas pós-parto que apresentavam fetos natimortos (TOCHETTO et al., 2018). Fora do Brasil, estudos mostraram a presença do PCV3 em fetos com miocardite, leitões nascidos fracos com encefalite, leitões desmamados com periarterite sistêmica (ARRUDA et al., 2019), fetos abortados e leitões recém-nascidos fracos (DEIM et al., 2019).

De acordo com Jiang et al. (2020b), foi possível realizar a reprodução da infecção verticalmente *in vitro* em camundongos, o que demonstrou a capacidade do vírus de infectar o coração e alvéolos dos fetos, porém o PCV3 não foi detectado em outros tecidos. O estudo de DEIM et al. (2019) corrobora com a possibilidade de transmissão vertical do agente, porém os autores não identificaram a presença de lesões macroscópicas nos fetos amostrados.

Além da técnica de PCR quantitativo Unterweger et al. (2021) propõem o uso de hibridização *in situ* (ISH) como critério adicional de diagnóstico e sugerem um ponto de corte de detecção de genoma viral em tecido cardíaco de fetos. Neste cenário, a genotipagem tornou-se imprescindível para a investigação epidemiológica, monitoramento do agente e desenvolvimento de formas de profilaxia (LINK et al., 2021).

Phan et al. (2016) detectaram material genético de PCV3 em lesões cardíacas e inflamação sistêmica em três casos clínicos negativos para PCV2, o que confirmou o potencial do PCV3 de causar doença em suínos. No entanto, a ISH não é capaz de diferenciar células infectantes de não infectantes, indicando apenas a presença do vírus nos tecidos (OH & CHAE, 2020).

O material de eleição com vistas a detecção viral do PCV3 se constitui através da colheita de fluido oral (PLUT et al., 2020), pois são reconhecidas possíveis fonte

de transmissão viral (WANG et al. 2019b). Por meio das técnicas de PCR e qPCR para diagnóstico utilizando-se amostras de pulmões, fluido oral e soro são considerados métodos de alta sensibilidade e especificidade (FRANZO et al., 2018).

A técnica de PCR vem sendo amplamente utilizada para diagnóstico, inclusive para caracterizar o isolamento viral de PCV3 em javalis no Brasil, onde se observou entre 10% e 36,3% de prevalência do agente (SOUZA et al., 2021; VARELA et al., 2021), bem como alto grau de similaridade com cepas de PCV3 identificadas em países como China, Dinamarca, Alemanha e Espanha (SOUZA et al., 2021; VARELA et al., 2021).

Saraiva e colaboradores submeteram 67 amostras clínicas de campo providas de animais saudáveis e com sinais clínicos de PCVAD coletadas de 9 estados brasileiros nos anos de 2006-2007. Por meio da técnica de PCR convencional foram evidenciados 47,8% das amostras positivas para PCV3 (a e b), porém em sua maioria as mesmas foram de animais saudáveis (29,8%).

Em estudo retrospectivo, conduzido por Sun et al. (2018), foram avaliadas 200 amostras coletadas durante 1990-1999, na China, sendo que a positividade para o agente foi de 6,5% apresentando 96% de similaridade para a região ORF2. Dessa forma, sugere-se que a ocorrência do primeiro caso de PCV3 de fato ocorreu no ano de 1996, nesta região, o que demonstra que o vírus já estaria presente nos rebanhos comerciais, mesmo antes da sua descoberta.

Um estudo semelhante foi conduzido por Rodrigues et. al. (2020) em dois estados brasileiros (Rio de Janeiro e Espírito Santo), foram submetidas a análise de nested PCR 35 amostras congeladas e 143 amostras fixadas em formalina apresentando-se 14,6% de positividade para o PCV3 (26/178), sendo aqui descrito a primeira circulação do vírus no ano de 1967 por meio de dois diferentes genótipos (a e b) sugerindo-se assim mais de um evento de introdução do vírus no Brasil.

Entre 2016 e 2019, foram identificadas 57 cepas do PCV3 na China com 96% de similaridade filogenética entre os nucleotídeos e menos de 60% de semelhança com outros vírus como PCV2 e PRRS (HA et al., 2020b), o que sugere um distanciamento genético dos genótipos de PCV2 circulantes nos rebanhos comerciais.

Faccini et al. (2017) também isolaram cepas de PCV3, na Itália, que apresentaram 99,7% a 97,8% de similaridade entre as sequências de nucleotídeos disponíveis na base de dados GenBank. Na Coreia, foi descrito 44,2% e 72,6% de prevalência para PCV3 para amostras individuais e de rebanho, respectivamente.

Estas tinham 99,2% e 98,6% de similaridade entre o genoma completo e ORF2 quando comparados as cepas americanas de PCV3 (KWON et al., 2017).

Por meio de coletas de fetos mumificados em cinco estados brasileiros, Dal Santo et al. (2020) encontraram 97% das amostras positivas para PCV3, mediante análise de PCR. Destes, 93,1% das amostras apresentavam coinfeção com agentes como PPV, PCV2 e *Leptospira spp.* Somado à ocorrência de coinfeção destes agentes, estes foram caracterizados como potencial de alto risco para infecção nos planteis suínos (WANG, et al., 2019b).

Yuan et al. (2020) desenvolveram e compararam o uso de qPCR com a fluorescência para diagnóstico de PCV3 baseado na proteína Cap apresentando boa especificidade e boa sensibilidade, ou seja, a técnica foi capaz de detectar a presença do vírus sem reações cruzadas com outras viroses e identificar o genoma viral mesmo estando presente em baixas concentrações (10 cópias genômicas/ μ L).

Oh & Chae (2020) publicaram o primeiro isolamento e caracterização genética do PCV3 por meio do uso de células primárias de rim suíno, mostrando assim, ser este um método eficiente para desenvolvimento de estudos voltados a replicação viral. De acordo com Diaz et al. (2020), foi possível detectar níveis de imunoglobulina M (IgM) entre 7-14 dias após a inoculação viral, porém, não foram detectados níveis de IgG. Por meio de análises histopatológicas, foram identificadas lesões de perivasculite sistêmica e miocardite, confirmadas mediante técnica de ISH.

De acordo com estes levantamentos, a vacinação de fêmeas torna-se um possível meio de evitar alterações clínicas graves, como abortamentos, mumificação fetal e natimortalidade. Avaliando-se esta ferramenta em matrizes durante três períodos gestacionais (início, meio e fim da gestação), fêmeas vacinadas para PCV2 na metade ou final do período gestacional apresentaram leitões mais pesados ao nascer e menor proporção de amostras de cordão umbilical positivas para o agente (PLEGUEZUELOS et al., 2021).

Ao longo dos últimos anos, características epidemiológicas e relativas ao diagnóstico do PCV3 foram significativamente avaliadas. Dentre as descobertas, verificou-se que planteis vacinados para PCV2 apresentaram menor carga viral de PCV3 por meio da técnica de qPCR, em comparação com planteis não vacinados (WOZNIAKI et al., 2019). Entretanto, Plut et al. (2020) sugerem que as vacinas comerciais disponíveis provavelmente não apresentem proteção cruzada entre as diferentes cepas virais.

Apesar de sua descrição em estudos epidemiológicos tanto em suínos asselvajados ou de linhagens comerciais, algumas informações referentes ao PCV3 ainda não foram elucidadas, como é o caso da sua patogenia. Todavia, vários pesquisadores têm direcionado seus estudos de modo a ficarmos atentos a este importante membro da família *Circoviridae* (KLAUMANN et al., 2018). Logo, a padronização das técnicas diagnósticas a serem empregadas a campo é fundamental para mapear e determinar possíveis impactos do PCV3 na indústria suinícola (SAPORITI et al., 2021) e, ainda, auxiliar no processo de controle da doença.

2.3.2 Parvovirose Suína

O parvovírus suíno (PPV) é caracterizado como um vírus DNA que se destaca como uma das principais causas de falhas reprodutivas nos rebanhos suínos (OH et al., 2017), resultando em mortalidade embrionária e fetal (SOUZA et al., 2019). Os membros da família *Parvoviridae* são caracterizados como pequenos vírus, resistentes com genoma linear simples, não envelopado com 4-6 kb, sendo este grupo dividido em duas subfamílias (*Parvovirinae* e *Densovirinae*), devido à sua característica em particular de infectar vertebrados inclusive seres humanos e invertebrados, respectivamente (COTMORE et al., 2019).

Dentre as principais manifestações clínicas podemos citar a presença de natimortalidade e mumificação fetal, bem como a ocorrência de retorno ao estro (STRECK, CANAL & TRUYEN, 2015), mortalidade embrionária e infertilidade (VEREECKE et al., 2022) sendo denominada como SMEDI.

De acordo com Xing e colaboradores (2017) atualmente são descritos sete genótipos diferentes do PPV, sendo o PPV7 identificado no ano de 2016 em rebanhos dos Estados Unidos e no ano de 2019 na China. De acordo com Serena et al. (2019) obteve-se o primeiro isolamento do PPV1 nesta época na Argentina e os dez isolados estão relacionadas as cepas presentes no Brasil.

O genoma viral é composto por duas proteínas não estruturais (NS1 e NS2) que atuam na replicação viral (DNA) e outras duas proteínas estruturais (VP1, VP2) que apresentam sua transcrição e tradução através do genoma viral do PPV (STRECK & TRUYEN, 2020). Os genes VP1 e VP2 assim como a ocorrência de substituições específicas em aminoácidos são responsáveis por apresentarem um papel

relativamente importante na virulência do agente e pela característica de tropismo das células no tecido hospedeiro (OH et al., 2017).

Estudos recentes demonstram que a taxa média de substituições de aminoácidos no genoma viral do PPV pode ser considerada próxima de vírus RNA, acarretando assim em diferentes atividades sorológicas neutralizantes com relação a cepa vacinal NADL-2, demonstrando assim a necessidade do desenvolvimento de novas cepas vacinais (DENG et al., 2019).

A proteína NS1 foi relacionada com a indução de apoptose da célula hospedeira, indicando o potencial do vírus em causar extensos danos ao tecido placentário, bem como à todas as células que estão em atividade mitótica elevada incluindo as células embrionárias e fetais (ZHANG et al., 2019b), podendo também infectar o tecido linfóide em animais adultos. O vírus é capaz de se replicar no núcleo das células infectadas durante a fase S da mitose celular (RUIZ et al., 2017).

De acordo com Serena et al. (2019) foram evidenciadas a presença do DNA viral em amostras de tecido fetal (MUM e NAT) provindos de fêmeas que não apresentavam evidências clínicas da doença sugerindo-se assim a possibilidade de infecções subclínicas.

Os sinais clínicos mais prevalentes do PPV são mortalidade e mumificação fetal, quando ocorre infecção anterior a 70 dias de gestação, logo os fetos infectados morrem antes de serem imunocompetentes ou sobrevivem para montar uma resposta imune com subsequente morte e/ou sobrevivência até o parto (JOO et al., 1976).

A exposição de fêmeas susceptíveis ao PPV pode acarretar em infecção transplacentária, mortalidade e reabsorção embrionária (MENGELING, PAUL & BROWN, 1980). A infecção se dá por meio da passagem de macrófagos maternos contaminados com o vírus para o feto, atravessando a barreira placentária (SERENA et al., 2019). Infecções aos 72, 99 e 105 dias de gestação não foram capazes de ocasionar mortalidade fetal e prontamente foram identificados níveis elevados de anticorpos no útero (BACHMANN, SHEFFY & VAUGHAN, 1975).

Por meio de análise histológica Kaur et al. (2016) detectaram lesões fetais de necrose e degeneração vacuolar em hepatócitos, juntamente com corpúsculo de inclusão intranuclear em hepatócitos, infiltrado mononuclear no fígado, além do infiltrado no miocárdio foram identificados focos de mineralização e fibrose.

Segundo estudo conduzido por Kaur et al. (2016) a técnica de sorologia apresentou prevalência de 41,1% para a detecção de PPV em Panjub (noroeste da

Índia), sendo esta uma técnica de diagnóstico que serve de aliado na prevenção e controle da doença em rebanhos suínos.

Para utilização em rebanhos comerciais naturalmente infectados os métodos de detecção molecular, como a nested PCR direcionado ao gene NS1 são necessários como método de confirmação para a ocorrência de infecção pelo agente, pois o mesmo poderá ser detectado em concentrações muito baixas de DNA viral (WOLF et al., 2008).

De acordo com Kaur e colaboradores (2016) a técnica de IHC se constitui como uma excelente ferramenta de diagnóstico para o PPV por meio de amostras de tecidos como coração, fígado, pulmão, baço e linfonodos em fetos abortados e placenta e útero para fêmeas confirmando-se a presença viral.

Estudos utilizaram fígado, tonsilas, pulmão, coração e rins de feto, além de útero e oóforo de fêmeas gestantes, para a detecção do agente (CHEN et al., 2019; SERENA et al., 2019). Serena e colaboradores (2019) demonstraram pela primeira vez o isolamento de PPV1 por meio da técnica de PCR em rebanhos argentinos com uma prevalência de 12,97%.

Chen et al. (2019) desenvolveram um clone infeccioso do agente (Y-PPV) e testaram em conjunto com uma cepa selvagem, observando em ambos os casos capacidade dos agentes em produzir lesões em útero e ovário. A detecção do agente neste trabalho foi realizada por meio de DNA viral, sendo detectado maiores níveis em pulmões e rins. Bolt et al. (1997) utilizaram a técnica de ISH e verificaram forte associação entre o PPV com lesões inflamatórias, como miocardite não supurativa.

O controle da doença é realizado por meio da utilização de vacinas comerciais disponíveis para marrãs e matrizes garantindo-se assim imunidade ativa contra o PPV, sendo esta a ferramenta mais efetiva para prevenção dos danos gerados pela doença (VAN DEN BORN et al., 2020).

Um estudo recente avaliou o desenvolvimento de uma nova vacina contra o PPV, mediante a aplicação de uma única dose. A vacina foi desenvolvida utilizando partículas semelhantes ao vírus (VLP), transferidas em células de *Escherichia coli*, e esta foi capaz de inibir a replicação e disseminação viral em marrãs de maneira satisfatória (HUA et al., 2020).

Zhou et al. (2020) avaliaram o desenvolvimento de um novo adjuvante imunomodulatório (N-2 HACC - cloreto de amônio trimilida de água N-2-hidroxipropil), capaz de produzir uma proteção contra a cepa homóloga de PPV. No entanto, não

houve alteração nos níveis de IL-2, IL-4, IFN- γ , CD4, CD8 e linfócitos T, o que destaca apenas o seu potencial de aumento da imunidade humoral.

2.3.3 Leptospirose Suína

A leptospirose suína é uma doença de caráter zoonótico, com distribuição mundial, capaz de infectar diferentes espécies, incluindo suínos, bovinos, equinos caprinos, cães, roedores e espécies silvestres (GONÇALVES & COSTA, 2011), responsável por acarretar extensos prejuízos econômicos à indústria de suínos, devido ao seu potencial altamente contagioso, sendo que rebanhos que apresentam característica de endemidade a mesma pode cursar de forma subclínica (PETRI et al., 2021).

Leptospira é uma bactéria gram-negativa e tem como aspecto morfológico ser móvel, longa e espiralada. O tamanho e amplitude deste agente podem variar de acordo com a espécie. A bactéria apresenta uma membrana externa de revestimento que encobre os flagelos e, uma membrana interna constituída de lipopolissacarídeos (LPS). Nos suínos, duas espécies são mais observadas, *L. interrogans* e *L. borgpetersenii*. Os principais sorovares descritos de *L. interrogans* são *pomona*, *icterohaemorrhagiae* e *canicola* e de *L. borgpetersenii* é o *tarassovi* (RAMOS et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2013).

Sua transmissão pode ocorrer de forma direta e/ou indireta principalmente pelo contato com urina de animais infectados, sendo os roedores os principais reservatórios do agente (NAU et al., 2019). Os rebanhos comerciais de suínos podem apresentar endemidade para o agente e não necessariamente apresentarem a forma clínica da doença. Portanto, a espécie suína, em particular, apresenta importante papel na transmissão de alguns sorovares de *Leptospira*, devido ao seu caráter de vetor assintomático (BERTELLONI et al., 2018).

A soropositividade para *Leptospira* encontrada em rebanhos comerciais brasileiros, para os sorotipos *icterohaemorrhagiae* (43,1%), *pomona* (18,1%) *tarassovi* (9,9%), foram associadas a baixa performance reprodutiva do rebanho e extensas perdas econômicas quando infectados pelos sorovares *icterohaemorrhagiae* e *tarassovi* e, ocorrência de leitões nascidos mortos e mumificação fetal associado ao sorotipo *pomona* (RAMOS et al., 2006).

Após a infecção, o agente é capaz de transpor as barreiras naturais do organismo, se multiplicando no interstício e fluídos orgânicos. Na fase denominada leptospiremia, a bactéria aloja-se em órgãos parenquimatosos, como fígado, baço, rins, meninges e fetos (FIGUEIREDO et al., 2013).

A forma crônica da doença pode ocasionar transtornos reprodutivos no terço final da gestação, bem como sinais de infertilidade, abortamento (LEE et al., 2017), fetos mumificados, natimortos ou, até mesmo, a ocorrência de leitegadas fracas (RAMOS et al., 2006), sendo esta a apresentação clínica mais frequente (DI AZEVEDO & LILENBAUM, 2020).

De acordo com Fernandes e colaboradores (2020) foram possíveis de se identificar a presença da bactéria em secreções vaginais sendo este um importante meio de transmissão do agente por meio de sua permanência neste sítio extra renal.

Além de afetar suínos domésticos, a bactéria é capaz de se alojar em órgãos reprodutivos de suínos asselvajados, constituindo-se um risco a saúde dos caçadores que realizam a manipulação dos órgãos, sem a utilização de equipamentos de proteção individual (CILIA et al., 2020). Outro ponto relevante com relação a saúde humana consiste no relato de presença de *Leptospira* patogênicas e saprófitas em urina e água de suínos. O contato de humanos com esses materiais e a contaminação do ambiente mostram-se pontos de risco a saúde pública local (OSPINA-PINTO & HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, 2021).

Como forma de diagnosticar a doença são utilizados principalmente a técnica sorológica de aglutinação microscópica (MAT) em suínos, no entanto esta técnica é sorogrupo específica e necessita de muito cuidado no momento da leitura (SOTO et al., 2007), sendo este um método indireto. A eliminação da bactéria em pequenas quantidades e sob caráter intermitente torna dificultoso seu diagnóstico (SCHOMMER et al., 2021).

Em um estudo conduzido no Estado de Alagoas (VALENÇA et al., 2012) utilizaram a MAT acima mencionada, apresentando uma prevalência de 16,1% (55/342), obtendo-se uma associação significativa entre o aumento de NAT e MUM com a soropositividade das matrizes, bem como aumento do IDE.

De acordo com Diaz et al. (2022) poderão ser combinadas técnicas diagnósticas como a MAT como forma de triagem, em seguida da utilização do método de PCR para sequenciamento genético e detecção direta do agente e animais portadores da doença, no entanto o isolamento bacteriano se faz extremamente

importante para identificação de sorovares locais aumentando a precisão do diagnóstico e melhorando as estratégias de vacinação dos rebanhos.

Segundo Schommer e colaboradores (2021) os altos níveis identificados na realização do MAT podem ocorrer apenas com a vacinação dos animais, indicando assim que não necessariamente estes títulos correspondem a infecção.

É importante associar o teste diagnóstico ao perfil de antibiograma, visando controle e tratamento eficiente dos animais. Com o objetivo de imunização de plantéis, têm-se estudado principalmente as proteínas de membrana externa e superfície como potentes antígenos anti-leptospirose (SOTO et al., 2007).

O desenvolvimento de testes moleculares para diagnóstico e monitoria da leptospirose tem se tornado de grande valia, visto que em métodos sorológicos podem existir reações cruzadas entre os sorotipos, bem como falha de soroconversão em animais afetados (MIRAGLIA et al., 2015). Blanco et al. (2016) fizeram um levantamento epidemiológico no Estado de São Paulo, utilizando o MAT e encontram 88,46% de predominância nas amostras positivas para o sorotipo *icterohaemorrhagiae*. Ospina-Pinto & Hernández-Rodríguez (2021) utilizaram o teste de PCR para a identificação de leptospirosas.

O teste molecular mais utilizado atualmente é o método de PCR convencional através do marcador genético lipL32 para detecção de *Leptospira* com a sua utilização em 48% dos estudos (DI AZEVEDO & LILENBAUM, 2020). Por meio de estudos Fearnley et al. (2008), desenvolveram um teste Light Cycler® PCR em tempo real, capaz de detectar uma região específica do gene 16S rRNA de bactérias patogênicas e não saprófitas, por meio de amostras de tecido renal, todavia sem a definição do sorotipo em específico neste teste.

3. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). **Relatório Anual 2021** São Paulo, 75p., 2021.

ALONSO-SPILSBURY, M.; MOTA-ROJAS, D.; VILLANUEVA-GARCIA, D.; MARTÍNEZ-BURNES, J.; OROZCO, H.; RAMÍREZ-NECOECHEA, R.; MAYAGOITIA, A. L.; TRUJILLO, M.L.; Perinatal Asphyxia pathophysiology in pig and human: A review. **Animal Reproduction Science**, vol. 90, p. 1-30, 2005.

AMOROSO, M. G.; SERRA, F.; ESPOSITO, C.; D'ALESSIO, N.; FERRARA, G.; CIOFFI, B.; ANZALONE, A.; PAGNINI, U.; CARLO, E. de; FUSCO, G.; MONTAGNARO, S.; Prevalence of infection with porcine circovirus types 2 and 3 in the wild boar population in Campania Region (Southern Italy). **Animals – MDPI**, vol. 11, p. 1-11, 2021.

ARAUJO LIMA, D. M.; CAMPOS, C. F.; GUIMARÃES, J. D.; Fatores que podem interferir no sucesso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) na suinocultura. **Scientific Electronic Archives**, vol. 12, p. 116-126, 2019.

ARRUDA, B.; PINEYRO, P.; DERSCHIED, R.; HAUSE, B.; BYERS, E.; DION, K.; LONG, D.; SIEVERS, C.; TANGEN, J.; WILLIAMS, T.; SCHWARTZ, K.; PCV3 – Associated disease in the United States swine herd. **Emerging Microbes & Infections**, vol. 8, p.684-698, 2019.

AUVIGNE, V.; LENEVEU, P.; JEHANNIN, C.; PELTONIEMI, P.; SALLÉ, E. Seasonal infertility in sows: A five-year field study to analyze the relative roles of heat stress and photoperiod. **Theriogenology**, vol. 74, p.60-66, 2010.

BACHMANN, P. A.; SHEFFY, B. E.; VAUGHAN, J. T.; Experimental in utero infection of fetal pigs with a Porcine Parvovirus. **Infection and Immunity**, vol. 12, p.455-460, 1975.

BAZER, F.W.; GEISERT, R.D.; THATCHER, W.W.; ROBERTS, R.M. The establishment and maintenance of pregnancy. In: COLE, D.J.A.; FOXCROFT, G.R. **Control of pig reproduction**. London: Butterworth Scientific, cap. 12, p. 227-252, 1982.

BAZER, F.W.; SPENCER, T.E; JOHNSON, G.A.; BURGHARDT, R.C.; WU, G. Comparative aspects of implantation. **Reproduction**, vol.138, p.195-209, 2009.

BEACH, N. M.; MENG, X. J.; Efficacy and future prospects of commercially available and experimental vaccines against porcine circovirus type 2 (PCV2). **Virus Research**, vol.164, p.33-42, 2012.

BERA, B. C.; CHOULDHARY, M.; ANAND, T.; VIRMANI, N.; SUNDARAM, K.; CHOULDHARY, B.; TRIPATHI, B. N.; Detection and genetic characterization of porcine circovirus 3 (PCV3) in pigs in India. **Transboundary and Emerging Disease**, p.1-12, 2019.

BERMUDEZ, D.S.V.; CAMPOS, F.S.; BONIL, L.; MOGOLLON, D.; JAIME, J. First detection of porcine circovirus type 3 in Colombia and the complete genome sequence demonstrates the circulation of PCV3a1 and PCV3a2. **Veterinary Medicine and Science**, vol.5, p.182-188, 2019.

BERNARDI, M. L.; BORTOLOZZO, F.; WENTZ, I.; Desenvolvimento do conceito suíno e fatores que predispoem à mumificação. **ResearchGate – I Simpósio UFRGS sobre Produção, Reprodução e Sanidade Suína**, p. 236-250, 2006.

BERTELLONI, F.; TURCHI, B.; VATTIATA, E.; VIOLA, P.; PARDINI, S.; CERRI, D.; FRATINI, F.; Serological survey on *Leptospira* infection in slaughtered swine in North-Central Italy. **Epidemiology and infection**, vol. 146, p. 1275-1280, 2018.

BLANCO, R.M.; SANTOS, L.F.; GALLOWAY, R.L.; ROMERO, E.C. Is the microagglutination test (MAT) good for predicting the infecting serogroup for leptospirosis in Brazil? **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, vol. 44, p.34-36, 2016.

BØE, K.E.; CRONIN, G.M. Individual variation in eating speed of dry sows. **Journal of Animal Science**, vol. 93, n.4, p.1881-1886, 2015.

BOLT, D. M.; HANI, H.; MULLER, E.; WALDVOGEL, A. S.; Non-suppurative Myocarditis in piglets associated with Porcine Parvovirus Infection. **Journal of Comparative Pathology**, vol.117, p.107-118, 1997.

BORGES, V.F.; BERNARDI, M.L.; BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Risk factors for stillbirth and foetal mummification in four Brazilian swine herds. **Preventive Veterinary Medicine**, vol.70, p.65-176, 2005.

BORGES, V.F.; BERNARDI, M.L.; BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Perfil de natimortalidade de acordo com ordem de nascimento, peso e sexo de leitões. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.60, n.5, p.1234-1240, 2008.

BROOKS, P.H.; RUSSELL, S.J.; CARPENTER, J.L. Water intake of weaned piglets from three to seven weeks old. **Veterinary Record**, vol.115, n.20, p.513-515, 1984.

BRUNBORG, I.M.; JONASSEN, C.M.; MOLDAL, T.; BRATBERG, T.; LIUM, B.; KOENEM, F.; SCHONHEIT, J.; Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, vol.19, p.368-375, 2007.

CARR, J.; WALTON, J.R. Examination of stillborn piglets. **In Practice**, vol.12, p.154-155, 1990.

CASTRO, A.M.M.G.; CRUZ, T.F.; SALGADO, V.R.; KANASHIRO, T.M.; FERRARI, K. L.; ARAUJOJR, J.P.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; Detection of porcine circovirus genotypes 2a and 2b in aborted fetuses from infected swine herds in the

State of São Paulo, Brazil. **Acta Veterinary Scandinavica – Brief Communication**, vol. 54, p.1-4, 2012.

CHEN, S.; MIAO, B.; ZHANG, H.; XIONG, Y.; ZHANG, X.; SHAO, T.; HE, J.; DU, Q.; HUANG, Y.; TONG, D.; Construction and characterization of the infectious clone of porcine parvovirus carrying genetic marker. **Veterinary Microbiology**, vol. 235, p.143-150, 2019.

CHRISTIANSON, W.T. Stillbirths, mummies, abortions, and early embryonic death. Journal Article, **Review Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice Swine Reproduction**, vol. 8, n.3, p.623- 639,1992.

CILIA, G.; BERTELLONI, F.; PIREDDA, I.; PONTI, M. N.; TURCHI, B.; CANTILE, C.; PARISI, F.; PINZAUTI, P.; ARMANI, A.; PALMAS, B.; NOWOROL, M.; CERRI, D.; FRATINI, F. Presence of pathogenic *Leptospira spp* in the reproductive system and fetuses of wild boars (*Sus scrofa*) in Italy. **Plos Neglected Tropical Diseases**, vol. 14, p.1-12, 2020.

CLARK, L.K.; LEMAN, A.D. Factors that influence litter size in pigs: Part I. **Pig news and information**. vol. 7, n.3, p.303-310. 1986.

COTMORE, S. F.; AGBANDJE-MCKENNA, M.; CANUTI, M.; CHIORINI, J. A.; EIS-HUBINGER, A. M.; HUGHES, J.; MIETZSCH, M.; MODHA, S.; OGLIASTRO, M.; PÉNZES, J. J.; PINTEL, D. J.; QIU, J.; SODERLUND-VENERMO, M.; TATTERSALL, P.; TIJSEN, P.; **ICTV Virus Taxonomy Profile: Parvoviridae – Journal of General Virology**, vol. 100, p. 367-368, 2019.

DAL SANTO, A.C.; CEZARIO, K.C.; BENNEMANN, P.E.; MACHADO, S.A.; MARTINS, M. Full-genome sequences of porcine circovirus e (PCV3) and high prevalence in mummified fetuses from commercial farms in Brazil. **Microbial Pathogenesis**, vol.141, p. 1-5, 2020.

DAY, B.N. Parturition. In: MORROW, D.A. (Ed). **Current therapy in theriogenology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 1064-1067, 1980.

DEIM, J.; DENCISO, L.; ERDELYI, I.; VALAPPIL, S.K.; VARGA, C.; PÓSA, A.; MAKRAI, L.; RAKHELY, G. Porcine circovirus type 3 detection in a Hungarian pig farm experiencing reproductive failures. **Veterinary Record**, vol.185, n.3, p.1-4, 2019.

DENG, S.; HAN, Z.; ZHU, M.; FAN, S.; ZHANG, J.; HUANG, Y.; XU, H.; CHEN, J.; Isolation and phylogenetic analysis of a new Porcine parvovirus strain GD2013 in China. **Journal of Virological Methods**, p. 1-18, 2019.

DIAZ, J. M.; PINEYRO, P.; SHEN, H.; SCHWARTZ, K.; VANNUCI, F.; LI, G.; ARRUDA, B.; LIROLA, L.G. Isolation of PCV3 from perinatal and reproductive cases of PCV3 – associated disease and in vivo characterization of PCV3 replication in cd/cd growing pigs. **Viruses**, vol. 12, p.1-21, 2020.

DIAZ, E. A.; LUNA, L.; BURGOS-MAYORGA, A.; DONOSO, G.; GUZMAN, D. A.; BAQUERO, M. I.; PEARSON, T.; BARRAGAN, V. A.; First detection of Lpetospira

santarosai in the reproductive track of a boar: A potencial threat to swine production and public health. **Plos One**, vol. 17 (9), p. 1-10, 2022.

DUTTON, T. L.; LARSON, K. L. Porcine Circovirus 3. **Swine Health Information Center – Center for Food Security and Public Health, Iowa State University**, 2016. Disponível em: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/shic-factsheet-porcinecircovirus-3>. Acesso em abr. 2022.

FACCINI, S.; BARBIERI, I.; GILIOLI, A.; SALA, G.; GIBELLI, L.R.; MORENO, A.; SACCHI, C.; ROSIGNOLI, C.; FRANZINI, G.; NIGRELLI, A. Detection and genetic characterization of Porcine circovirus type 3 in Italy. **Transboundary and Emerging Diseases**, vol. 64, n.6, p.1-4, 2017.

FEARNLEY, C.; WAKELEY, P.R.; BELTRAN, J. G.; DALLEY, C.; WILLIAMSON, S.; GAUDIE, C.; WOODWARD, M.J. The development of a real-time PCR to detect pathogenic *Leptospira* species in kidney tissues. **Research in Veterinary Science**, vol. 85, p.8-16, 2008.

FERNANDES, J. J.; JÚNIOR, J. P. A.; MALOSSI, C. D.; ULLMANN, L. S.; COSTA, D. F. da; SILVA, M. L. C. R.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S. de; HIGINO, S. S. dos S.; High frequency of seropositive and carriers of *Leptospira* spp. In pigs in the semiarid region of northeastern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, p. 1-7, 2020.

FIGUEIREDO, Í.L.; ALVES, C.J.; SILVA, L.C.A.; OLIVEIRA, R.M.; AZEVEDO, S.S. Leptospirose Suína: uma importante causa de falhas e perdas reprodutivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, vol.47, p.344-353, 2013.

FIRST, N.L.; LOHSE, J.K.; NARA, B.S. The endocrine control of parturition. In: COLE D.J.A.; FOXCROFT, G.R. (Eds.) **Control of Pig Reproduction**. Butterworths, London, England, p. 311-342, 1982.

FRANZO, G.; LEGNARDI, M.; CENTELLEGHE, C.; TUCCIARONE, C. M.; CECCHINATO, M.; CORTEY, M.; SEGALÉS, J.; DRIGO, M. Development and validation of direct PCR and quantitative PCR assays for the rapid, sensitive and, economical detection of porcine circovirus 3. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, vol. 30, p. 538-544, 2018.

FREKING, B. A.; LEYMASTER, K. A.; VALLET, J. L.; CHRISTENSON, R. K.; Number of fetuses and conceptus growth throughout gestation in lines of pigs selected for ovulation rate or uterine capacity. **Journal Animal Science**, v. 85, p. 2093-2103, 2007.

GONÇALVES, L. M. F.; COSTA, F. A. L.; Leptospiroses em Suínos no Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, vol. 40, p. 1-14, 2011.

GRASSI, L.; TAGLIAPIETRA, V.; RIZZOLI, A.; MARTINI, M.; DRIGO, M.; FRANZO, G.; MENANDRO, M. L. Lack of evidence on the susceptibility of Ticks and Wild rodent Species to PCV3 infection. **MDPI – Journal Pathogens**, vol. 9, p. 1-8, 2020.

GUTHRIE; H.D.; POLGE, C. Luteal function and oestrus in gilts treated with a synthetic analogue of prostaglandin F2 alpha at various times during the oestrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, vol. 48, p.423-425, 1976.

GUTHRIE; H.D.; POLGE, C. Treatment of pregnant gilts with a prostaglandin analogue, Cloprostenol, to control oestrus and fertility. **Journal of Reproduction and Fertility**, vol. 52, p. 271-273, 1978.

HA, Z.; LI, J. F.; XIE, C. Z.; LI, C. H.; ZHOU, H. N.; ZHANG, Y.; HAO, P. F.; NAN, F. L.; ZHANG, J. Y.; HAN, J. C.; ZHANG, H.; ZHUANG, X. Y.; GUO, Y. C.; LU, H. J.; JIN, N. Y. First detection and genomic characterization of porcine circovirus 3 in mosquitoes from pig farms in China. **Veterinary Microbiology**, vol. 240, p.1-7, 2020a.

HA, Z.; LI, J.; XIE, C.; YU, C.; HAO, P.; ZHANG, Y.; XU, W.; NAN, F.; XIE, Y.; LI, Y.; RONG, F.; WANG, G.; GUO, Y.; LU, H.; JIN, N. Prevalence, pathogenesis, and evolution of porcine circovirus type 3 in China from 2016 to 2019. **Veterinary Microbiology**, vol. 247, p. 1-9, 2020b.

HANENBERG, E.H.E.T.; KNOL, E.F.; MERKS, J.W.M. Estimates of genetic parameters for reproduction traits at different parities in Dutch Landrace pigs. **Livestock Production Science**, vol. 69, p. 179-186, 2001.

HERDT, G.; MACIEL, A. E.; MARTINS, M.; TONIN, A. A.; VANAZZI, D. L.; MARTINS, D.; BALDASSO, N. D.; GIRARDINI, L. K.; MACHADO, S. A.; BENNEMANN, P. E. High prevalence of porcine circovirus 2, porcine parvovirus, and pathogenic leptospirae in mummified swine fetuses in Southern Brazil. **Ciência Rural**, vol. 49, p. 1-6, 2019.

HERPIN, P.; HULIN, J. C.; LE DIVIDICH, J.; FILLAUT, M. Effect of oxygen inhalation of birth on the reduction of early postnatal mortality in pigs. **Journal of Animal Science**, vol. 79, p. 5-10, 2001.

HOU, L.; WANG, J.; ZHANG, W.; QUAN, R.; WANG, D.; ZHU, S.; JIANG, H.; WEI, L.; LIU, J. Dynamic alterations of gut microbiota in porcine circovirus type 3- infected piglets. **Frontiers in Microbiology**, vol. 11, p.1-11, 2020.

HUA, T.; ZHANG, D.; TANG, B.; CHANG, C.; LIU, G.; ZHANG, X.; The Immunogenicity of the virus-like particles derived from the VP2 protein of porcine parvovirus. **Veterinary Microbiology**, vol. 248, p. 1-8, 2020.

JIANG, H.; WANG, D.; WANG, J.; ZHU, S.; SHE, R.; REN, X.; TIAN, J.; QUAN, R.; HOU, L.; LI, Z.; CHU, J.; GUO, Y.; XI, Y.; SONG, H.; YUAN, F.; WEI, L.; LIU, J. Induction of Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome in piglets by Infection with Porcine Circovirus Type 3. **Journal of Virology**, vol. 93, p.1-16, 2019.

JIANG, H.; WEI, L.; WANG, D.; WANG, J.; ZHU, S.; SHE, R.; LIU, T.; TIAN, J.; QUAN, R.; HOU, L.; LI, Z.; CHU, J.; ZHOU, J.; GUO, Y.; XI, Y.; SONG, H.; YUAN, F.; LIU, J. ITRAQ – based quantitative proteomics reveals the first proteome profiles of piglets infected with porcine circovirus type 3. **Journal of Proteomics**, vol. 212, p.1-13, 2020a.

JIANG, Z.; WU, J.; JIANG, M.; XIE, Y.; BU, W.; LIU, C.; ZHANG, G.; LUO, M. A novel technique for constructing infectious cloning of type 3 porcine circovirus. **Frontiers in Microbiology**, vol. 11, p. 1-11, 2020b.

JOO, H. S.; DONALDSON-WOOD, C. R.; JOHNSON, R. H.; Observations on the pathogenesis of Porcine Parvovirus Infection. **Archives of Virology**, vol. 51, p.123-129, 1976.

KAUR, A.; MAHAJAN, V.; LEISHANGTHEM, G. D.; SINGH, N. D.; BHAT, P.; BANGA, H. S.; FILIA, G.; Epidemiological and immunopathological studies on porcine parvovirus infection in Punjab. **Veterinary World**, vol. 9:8, p. 827-831, 2016.

KIM, S.H.; PARK, J.Y.; JUNG, J.Y.; KIM, H. Y.; PARK, Y. R.; LEE, K.K.; LYOO, Y.S.; YEO, S.G.; PARK, C.K. Detection and genetic characterization of porcine circovirus 3 from aborted fetuses and pigs with respiratory disease in Korea. **Journal of Veterinary Science**, vol.19, p.721-724, 2018.

KIRKWOOD, R.N.; BAIDOO, S.K.; AHERNE, F.X. The influence of feeding level during lactation and gestation on the endocrine status and reproductive performance of second parity sows. **Canadian Journal of Animal Science**, vol. 70, p.1119-1126, 1990.

KLAUMANN, F.; CORREA-FIZ, F.; FRANZO, G.; SIBILA, M.; NÚÑEZ, J.I.; SEGALÉS, J. Current knowledge on porcine circovirus 3 (PCV3): A novel virus with a yet unknown impact on the swine industry. **Frontiers in Veterinary Science**, vol. 5, p.1-13, 2018.

KNIGHT, W.J.; AAZER, F.W.; THATCHER, W.W.; FRANKE, D.E.; WALLACE, HD. Conceptus development in intact and unilaterally hysterectomized-ovariectomized gilts: interrelations among hormonal status, placental development, fetal fluids and fetal growth. **Journal of Anima Science**, vol. 44, p. 620-637, 1977.

KOKETSU, Y. Six component intervals of nonproductive days in breeding-female pigs on commercial farms in Japan. **Journal of Animal Science**, vol. 83, p.1406–1412, 2005.

KOKETSU, Y.; DIAL, G.D.; KING, V.L. Returns to service after mating and removal of sows for reproductive reasons from commercial swine farms. **Theriogenology**, vol. 47, p.1347-1363. 1997.

KRIDLI, R. T.; KHALAJ, K.; BIDARIMATH, M.; TAYADE, C. Placentation, maternal-fetal interface, and conceptus loss in swine. **Theriogenology Animal Reproduction**, vol. 85, p.135-144, 2016.

KWON, T.; YOO, S.J.; PARK, C.K.; LYOO, Y.S. Prevalence of novel porcine circovirus 3 in Korean pig populations. **Veterinary Microbiology**, vol. 207, p.178-180, 2017.

LAROCHELLE, R.; MAGAR, R.; D'ALLAIRE, S. Comparative serologic and virologic study of commercial swine herds with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, vol. 67, p. 114-120,

2003.

LEE, H. S.; KHONG, N. V.; XUAN, H. N.; NGHIA, V. B.; NGUYEN-VIET, H.; GRACE, D. Seroprevalence of specific *Leptospira* serovars in fattening pigs from 5 provinces in Vietnam. **BMC Veterinary Research**, vol.13, p.1-7, 2017.

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

LEFAUCHEUR, L.; ECOLAN, P.; PLANTARD, L.; GUEGUEN, N. New insights into muscle fiber types in the pig. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, vol. 50, p.719-730, 2002.

LEFEBVRE, R. C. Fetal mummification in the major domestic species: current perspectives on causes and management. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, vol. 6, p.233-244, 2015.

LI, G.; HE, W.; ZHU, H.; BI, Y.; WANG, R.; XING, G.; ZHANG, C.; ZHOU, J.; YUEN, K. Y.; GAO, G. F.; SU, S. Origin, genetic diversity, and Evolutionary Dynamics of Novel Porcine Circovirus 3. **Advanced Science**, vol. 1800275, p. 1-10, 2018.

LINK, E. K.; EDDICKS, M.; NAN, L.; RITZMANN, M.; SUTTER, G.; FUX, R. Discriminating the eight genotypes of the porcine circovirus type 2 with Taqman-based real-time PCR. **Virology Journal**, vol.18, p.1-12, 2021.

LOVE, R.J., EVANS, G.; KLUPIEC, C. Seasonal effects on fertility in gilts and sows. **Journal of Reproduction and Fertility**. vol. 48, p.191-206, 1993.

LOVE, R.J., KLUPIEC, C., THORNTON, E.J. & EVANS, G. An interaction between feeding rate and season affects fertility of sows. **Animal Reproduction Science**, vol. 39, p.275-84, 1995.

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

MADSON, D.M.; OPRIESSNIG, T. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: disease, vertical transmission, diagnostics and vaccination. **Animal Health Research Reviews**, vol. 12, p.47-65, 2011.

MAES, D.; RODRIGUEZ, A. L.; RIJSSELAERE, T.; VYT, F.; Artificial insemination in Pigs. **ResearchGate**, p. 1-17, 2011.

MCPHERSON, R.L.; JI, F.; WU, G.; BLANTON, J.R.; KIM, S.W. Growth and compositional changes of fetal tissues in pigs. **Journal of Animal Science**, vol. 82, p.2534-2540, 2004.

MELLAGI, A.P.G.; BERNADI, M.L.; BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Influência do tamanho da leitegada, parição e presença de mumificados na duração da gestação em suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, vol. 34, n.3, p.307-311, 2006.

MENGELING, W. L.; PAUL, P. S.; BROWN, T. T.; Transplacental infection and embryonic death following maternal exposure to porcine parvovirus near the time of conception. **Archives of Virology**, vol. 65, p.55-62, 1980.

MEREDITH, M.J. Pig breeding and infertility. In: MEREDITH, M.J. (Ed). **Animal Breeding and Infertility**. Cambridge: Blackwell Science, p.278-353 ,1995.

MIGLINO, M.A.; PEREIRA, F.T.V.; SANTOS, T.C.; CARVALHO, A.F. A morfologia placentária dos suínos domésticos – revisão. **Arquivo Ciência Veterinária e Zoologia - Unipar**, vol. 4, p.71-76, 2001.

MIKAMI, O.; NAKAJIMA, H.; KAWASHIMA, K.; YOSHII, M.; NAKAJIMA, Y. Non suppurative myocarditis caused by porcine circovirus type 2 in a weak-born piglet. **Journal Veterinary Medicine Science – Pathology**, vol. 67, p.735-738, 2005.

MIRAGLIA, F.; MORENO, L.Z.; MORAIS, Z.M.; LANGONI, H.; SHIMABUKURO, F.H.; DELLAGOSTIN, O.A.; HARTSKEERL, R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORENO, A M. Characterization of *Leptospira interrogans* serovar *Pomona* isolated from swine in Brazil. **The Journal of Infection in Developing Countries**, vol. 9, p.1054-1061, 2015.

MORÉS, N.; ROCHA, C.S.; RITTERBURSCH, G.A.; LIMA, E.S.; BORDIN, L.C.; AMARAL, A.L.; COLDEBELLA, A.; ZANELLA, J.R.C.; Causas Infeciosas de problemas reprodutivos na produção de suínos. **Embrapa – Comunicado Técnico**, vol. 498, p. 1-9, 2011.

MUIRHEAD, M.R., ALEXANDER, T.J.L. Reproduction: non infectious infertility. In: MUIRHEAD, M.R., ALEXANDER, T.J.L. (Eds.). **Managing pig health and the treatment of disease. A reference for the farm**. Sheffield: 5M Enterprises. pp. 133-162, 1997.

NAU, L. H.; EMIRHAR, D.; OBIEGALA, A.; MYLIUS, M.; RUNGE, M.; JACOB, J.; BIER, N.; NOCKLER, K.; IMHOLT, C.; BELOW, D.; PRINCK, C.; DREESMAN, J.; ULRICH, R. G.; PFEFFER, M.; MAYER-SCHOLL, A.; Leptospirose in Deutschland: Aktuelle Erkenntnisse zu Erregerspezies, Reservoirwirten und Erkrankungen bei Mensch und tier. **Originalien und Übersichten**, vol. 62, p. 1510-1521, 2019.

O’CONNOR, B.; GAUVREAU, H.; WEST, K.; BOGDAN, J.; AYROUD, M.; CLARK, E. G.; KONOBY, C.; ALLAN, G.; ELLIS, J.A. Multiple porcine circovirus 2 – associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. **The Canadian Veterinary Journal**, vol. 42, p.551-553, 2001.

OH, W.T.; KIM, R.Y.; NGUYEN, V.G.; CHUNG, H.C.; PARK, B.K. Perspectives on the Evolution of Porcine Parvovirus. **Viruses**, vol. 9, p.1-13, 2017.

OH, T.; CHAE, C. First isolation and genetic characterization of porcine circovirus type 3 using primary porcine kidney cells. **Veterinary Microbiology**, vol. 241, p. 1-5, 2020.

OPRIESSNIG, T., MENG, X. J., HALBUR, P. G. Porcine circovirus type 2 – associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. **Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine**, vol. 19, p.591-615, 2007.

OPRIESSNIG, T., GIMENEZ-LIROLA, L. G., HALBUR, P. G. Polymicrobial respiratory disease in pigs. **Animal Health Research Reviews**, vol.12, p.133-148, 2011.

OPRIESSNIG, T.; CASTRO, M.M.G.; KARUPPANNAN, A.K.; GAUGER, P.C.; HALBUR, P.G.; MATZINGER, S.R.; MENG, X.J. A porcine circovirus type 2b (PCV2b) – based experimental vaccine is effective in the PCV2b – *Mycoplasma hyopneumoniae* coinfection pig model. **Vaccine**, vol. 37, p.6688-6695, 2019.

OPRIESSNIG, T.; KARUPPANNAN, A.K.; CASTRO, A. M.M.G.; XIAO, C.T. Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. **Virus Research**, vol. 286, p.1-11, 2020.

OSPINA-PINTO, M.C.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, P. Identification of *Leptospira spp.* In the animal-environment interface (swine-water) in pig production cycle. **Tropical Animal Health and Production**, vol. 53:155, p. 1-9, 2021.

PACINI, M. I.; FORZAN, M.; CILIA, G.; BERTELLONI, F.; FRATINI, F.; MAZZEI, M. Detection and characterization of viral pathogens associated with reproductive failure in wild boars in Central Italy. **Animals**, vol. 11, p. 1-11, 2021.

PADILHA, J.B.; GROFF, P.M.; TURMINA, R.; TEIXEIRA, P.P.M. Mortalidade embrionária e fetal em suínos: uma revisão. **Nucleus Animalium**, vol. 9, p. 7-16, 2017.

PALINSKI, R.; PINEYRO, P.; SHANG, P.; YUAN, F.; GUO, R.; FANG, Y.; BYERS, E.; HAUSE, B.M. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure. **Journal of Virology**, vol. 91, p. 1-14, 2016.

PELTONIEMI O.A.T, LOVE RJ, KLUPIEC C, EVANS G. Effect of feed restriction and season on LH and prolactin secretion, adrenal response, insulin and FFA in group housed pregnant gilts. **Animal Reproduction Science**, vol. 49, p.179-179, 1997.

PELTONIEMI, O.A.T., LOVE, R.J., HEINONEN, M., TUOVINEN, V.; SALONIEMI, H. Seasonal and management effects on fertility of the sow: a descriptive study. **Animal Reproduction Science**, vol. 55, p.47-61, 1999.

PELTONIEMI, O.A.T., TAST, A.; LOVE, R.J. Factors effecting reproduction in the pig: seasonal effects and restricted feeding of the pregnant gilt and sow. **Animal Reproduction Science**. vol. 60-61, p.173-84, 2000.

PELTONIEMI, O.A.T., BJÖRKMAN, S.; MAES, D. Reproduction of group housed sows. **Porcine Health Management**, vol. 2, p.1-6, 2016.

PENSAERT, M.B.; JR SANCHEZ, R.E.; MIKKELSEN, A.S.L.; ALLAN, G.M.; NAUWYNCK, H.J. Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. **Veterinary Microbiology**, vol. 98, p.175-183, 2004.

PERE, M.; DOURMAD, J.T.; ETIENNE, M. Effect of number of pig embryos in the uterus on their survival and development and on maternal metabolism. **Journal of Animal Science**, vol. 75, p. 1337-1342, 1997.

PERIN, J.; GAGGINI, T.S.; MANICA, S.; MAGNABOSCO, D.; BERNARDI, M.L.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P. Evaporative snout cooling system on the performance of lactating sows and their litters in a subtropical region. **Ciência Rural**, vol. 46, n. 2, p. 342-347, 2014.

PETRI, F. A. M.; SONALIO, K.; ALMEIDA, H. M. de S.; MECHLER-DREIBI, M. L.; GALDEANO, J. V. B.; MATHIAS, L. A.; OLVEIRA, L. G. de; Cross-sectional study of *Leptospira* spp. In commercial pig farms in the state of Goiás, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, vol. 53:13, p. 1-11, 2021.

PHAN, T. G.; GIANNITTI, F.; ROSSOW, S.; MARTHALER, D.; KNUTSON, T.; LI, L.; DENG, X.; RESENDE, T.; VANUCCI, F.; DELWART, E. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multy-systemic inflammation. **Virology Journal**, vol.13, p.1-8, 2016.

PLEGUEZUELOS, P.; SIBILA, M.; CUADRADO, R.; LÓPEZ-JIMÉNEZ, R.; PÉREZ, D.; HUERTA, E.; LLORENS, A. M.; NÚÑEZ, J. I.; SEGALÉS, J.; LÓPEZ-SORIA, S. Exploratory field study on the effects of porcine circovirus 2 (PCV-2) sow vaccination at different physiological stages mimicking blanket vaccination. **Porcine Health Management**, vol. 7, p.1-12, 2021.

PLUT, J.; CIGLENEKI, U.J.; OVELN, G.I.; KNIFIC, T.; STUKEL, J.M. A molecular survey and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 using oral fluid, faeces and serum. **BMC Veterinary Research**, vol. 16, p. 1-9, 2020.

POPE, W.F.; FIRST, N.L. Factors affecting the survival of pigs embryos. **Theriogenology**, vol. 23, p.91-105, 1985.

PRINZ, C.; STILLFRIED, M.; NEUBERT, L. K.; DENNER, J.; Detection of PCV3 in wild boars. **Virology Journal**, vol. 16, p. 1-7, 2019.

PRUNIER, A., QUESNEL, H., MESSIAS DE BRAGANÇA, M. & KERMABON, A.Y. Environmental and seasonal influences on the return-to-oestrus after weaning in primiparous sows: a review. **Livestock Science**. 45, 103-110, 1996.

RAMOS, A.C.F.; SOUZA, G.N.; LILENBAUM, W. Influence of leptospirosis on reproductive performance of sows in Brazil. **Theriogenology**, vol. 66, p.1021-1025, 2006.

ROCHA, D.L.; ALBERTON, G.C.; SANTOS, J.L.; Identificação do circovirus suíno tipo 2 e do parvovírus suíno em fetos suínos natimortos e mumificados provenientes de granjas no Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, vol. 11, p. 600-606, 2010.

RODRIGUES, I. L. F.; CRUZ, A. C. M.; SOUZA, A. E.; KNACKFUSS, F. B.; COSTA, C. H. C.; SILVEIRA, R. L.; CASTRO, T. X.; Restrospective study of porcine circovirus 3 (PCV3) in swine tissue from Brazil (1967- 2018). **Veterinary Microbiology - Research Paper**, vol. 51, p. 1391-1397, 2020.

RODRIGUEZ, A. L.; RIJSSELAERE, T.; VYT, P.; SOOM, A. V.; MAES, D.; Effect of dilution temperature on boar sêmen quality. **Reproduction in Domestic Animals**, p. 1-4, 2011.

ROSA, L. S.; FILHO, L.C.C.C.; SOUZA, M.I.L.; FILHO, R.A.C.C. Fatores que afetam as características produtivas e reprodutivas das fêmeas suínas. **Boletim da Indústria Animal**, vol. 71, p. 381-395, 2014.

RUIZ, V.L.A.; OGATA, R.A.; BERSANO, J.G.; CATROXO, M.H.B. Boletim Técnico Parvovirose Suína. **Instituto Biológico**, vol. 31, p. 1-24, 2017.

SAHA, D.; LEFEBVRE, D.J.; DOORSSELAERE, J.V.; ATANASOVA, K.; BARBÉ, F.; GELDHOF, M.; KARNIYCHUCK, U.U.; NAUWYNKI, H.J. Pathologic and virologic findings in mid-gestational porcine foetuses after experimental inoculation with PCV2a or PCV2b. **Veterinary Microbiology**, vol.145, p.62-68, 2010.

SANCHEZ JR, R.E.; NAUWYNCK, H.J.; MCNEILLY, F.; ALLAN, G.M.; PENSAERT, M.B. Porcine circovirus 2 infection in swine foetuses inoculated at different stages of gestation. **Veterinary Microbiology**, vol. 83, p.169-176, 2001.

SANCHEZ JR., E.R.; MEETERS, P.; NAUWYNCK, H.J.; PENSAERT, M.B.; Change of porcine circovirus 2 target cells in pigs during development from fetal to early post-natal life. **Veterinary Microbiology**, vol. 95, p. 15-25, 2003.

SAPORITI, V.; FRANZO, G.; SIBILA, M.; SEGALÉS, J. Porcine circovirus 3 (PCV-3) as a causal agent of disease in swine and a proposal of PCV-3 associated disease case definition. **Transboundary and Emerging Disease**, vol. 2021, p. 1-13, 2021.

SARAIVA, G. L.; VIDIGAL, P. M. P.; ASSAO, V. S.; FAJARDO, M. L. M.; LORETO, A. N. S.; FIETTO, J. L. R.; BRESSAN, G. C.; LOBATO, Z. I. N. P.; ALMEIDA, M. R. de; SILVA-JÚNIOR, A.; Retrospective detection and genetic characterization of Porcine Circovirus 3 (PCV3) Strains identified between 2006-2007 in Brazil. **Viruses**, vol. 11, p. 1-11, 2019.

SCHOMMER, S. K.; HARRISON, N.; LINVILLE, M.; SAMUEL, M. S.; HAMMOND, S. L.; WELLS, K. D.; PRATHER, R. S.; Serologic titers to *Leptospira* in vaccinated pigs and interpretation for surveillance. **Plos One**, vol. 16 (11), p. 1-10, 2021.

SECCO, P.M.; MOYA, C.F. Anatomia e fisiologia reprodutiva da fêmea suína: uma revisão. **Suinocultura e Avicultura do Básico a Precisão**, p.43-55, 2021.

SEGALÉS, J.; ALLAN, G. M.; DOMINGO, M. Porcine circovirus disease. **Animal Health Research Reviews**, vol. 6, n.2, p.119–142, 2005.

SEGALÉS, J.; ROSELL, C.; DOMINGO, M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. **Veterinary Microbiology**, vol. 98, p.137-149, 2004.

SENGER, P.L. (Ed). **Pathways to Pregnancy & Parturition**. 3rded. Washington: Current Conceptions, p.254-271. 2012./

SERENA, M. S.; CAPPUCCIO, J. A.; METZ, G. E.; ASPITIA, C. G.; DIBÁRBORA, M.; CALDERON, M. G.; ECHEVERRÍA, M. G. Detection and molecular characterization of porcine parvovirus in fetal tissues from sows without reproductive failure in Argentina. **Heliyon**, vol. 5, p. 1-6, 2019.

SHEN, H.; LIU, X.; ZHANG, P.; WANG, L.; LIU, Y.; ZHANG, L.; LIANG, P.; SONG, C. Genome characterization of a porcine circovirus type 3 in South China. **Transboundary and Emerging Diseases**, vol. 61, n.1, p.264-266, 2017.

SHERWOOD, O.D. Relaxin at parturition in the pig. In: COLE, D.J.A.; FOXCROFT, G.R. (Eds.) **Control of Pig Reproduction**. Butterworths, London, England, p.311-342, 1982.

SIDLER, X.; SYDLER, T.; MATEOS, J. M.; KLAUSMANN, S.; BRUGNERA, E. Porcine Circovirus Type 2 Pathogenicity alters host's central tolerance for propagation. **Pathogens**, v.9, n.10, p.1-17, 2020.

SILVA, G.S.; LANA, M.V.C.; DIAS, G.B.G.; CRUZ, R.A.S.; LOPES, L.L.; MACHADO, G.; COBERLLINI, L.G.; GAVA, D.; SOUZA, M.A.; PESCADOR, C.A. Case-control study evaluating the sow's risk factors associated with stillbirth piglets in Midwestern in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, vol. 47, n.2, p. 445-449, 2014.

SILVA C.L.A.; VAN DEN BRAND, H.; LAURENSSEN, B.F.A.; BROEKHUIJSE, M.L.W.J.; KNOL, E.F.; KEMP, B. Relationships between ovulation rate and embryonic and placental characteristics in multiparous sows at 35 days of pregnancy. **Animal**, vol. 10, p.1192-1199, 2016.

SILVEIRA, P. R. S. da; Fatores que interferem na taxa de parição em rebanhos suínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, vol. 31, p. 32-37, 2007.

SOEDE, N.M.; KEMP, B. Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs. **Journal of Reproduction and Fertility**, vol. 52, p.91-103, 1997.

SOUSA, P.; NÄÄS, I.A. Environmental modification for gestating sows. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, vol. 42, n.3, p.216-221, 2005.
 SOUZA, A. R. de, Yamin, M.; GAVA, D.; ZANELLA, J. R. C.; GATTI, M. S. V.; BONAFE, C. F. S.; NETO, D. F. de L.; Porcine Parvovirus VP1/VP2 on a time series epitope mapping: exploring the effects of high hydrostatic pressure on the immune recognition of antigens. **Virology Journal**, vol. 16:75, p. 1-11, 2019.

SOTO, F.R.M.; VASCONCELLOS, S.A.; PINHEIRO, S.R.; BERNARSI, F.; CAMARGO, S.R. Leptospirose Suína. **Arquivo Instituto Biológico**, vol. 74, p.379-395, 2007.

SPENCER, T.E.; BURGHARDT, R.C.; JOHNSON, G.A.; BAZER, F.W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Animal Reproduction Science**, vol. 82–83, p.537–550, 2004.

STRECK, A. F.; CANAL, C. W.; TRUYEN, U.; Molecular epidemiology and evolution of porcine parvovirus. **Infection, Genetics and Evolution**, vol. 36, p. 300-306, 2015.

STRECK, A. F.; TRUYEN, U.; Porcine Parvovirus. **Curr. Issues Mol. Biol.**, vol. 37, p. 33-45, 2020.

STERNING, M.; RYDMER, L.; ELIASSON, L.; EINARSSON, S.; ANDERSSON, K. A study on primiparous sows of the ability to show standing oestrus and to ovulate after weaning. Influences of loss body weight and backfat during lactation and of litter size, litter weight gain and season. **Acta Veterinaria Scandinavica**, vol. 31, p.227-36, 1990.

SUN, J.; WEI, L.; LU, Z.; MI, S.; BAO, F.; GUO, H.; TU, C.; ZHU, Y.; GONG, W.; Retrospective study of porcine circovirus 3 infection in China. **Transboundary and Emerging Diseases**, vol. 65, p. 1-7, 2018.

SUN, W.; DU, Q.; HAN, Z.; BI, J.; LAN, T.; WANG, W.; ZHENG, M. Detection and genetic characterization of porcine circovirus 4 (PCV4) in Guangxi, China. **Gene**, vol. 773, p.1-7, 2021.

SURIYASOMBOON, A.; LUNDEHEIM, N.; KUNAVONGKRIT, A.; EINARSSON, S. Effect of temperature and humidity on reproductive performance of crossbred sows in Thailand. **Theriogenology**, vol. 65, p.606-28, 2006.

TAN, C.Y.; OPASKORNKUL, K.; THANAWONGNUWECH, R.; ARSHAD, S.S.; HASSAN, L.; OOI, P.T. First molecular detection and complete sequence analysis of porcine circovirus type 3 (PCV3) in Peninsular Malaysia. **Plos One**, vol. 15, p.1-22, 2020.

TARRAF, C.G.; KNIGHT, J.W. Effect of uterine space and fetal sex on conceptus development and in vitro release of progesterone and estrone front regions of the porcine placenta throughout gestation. **Domestic Animal Endocrinology**. vol. 12, p.63-71, 1995.

TOCHETTO, C.; LIMA, D.A.; VARELA, A.P.M.; LOIKO, M.R.; PAIM, W.P.; SCHEFFER, C.M.; HERPICH, J.I.; CERVA, C.; SCHMITD, C.; CIBULSKI, S.P.; SANTOS, A.S.; MAYER, F.Q.; ROEHE, P.M. Full-genome sequence of porcine circovirus type 3 recovered from sérum of sows with stillbirths in Brazil. **Transboundary and Emerging Disease**, vol. 65, n.1, p.5-9, 2018.

TOKACH, M. D.; DIAL, G. D. Managing the Lactating Sow for Optimal Weaning and Rebreeding Performance. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, vol. 8, n.3, p.559–573, 1992.

TUMMARUK, P.; LUNDEHEIM, N.; EINARSSON, S.; DALIN, A.M.; Repeat breeding and subsequent reproductive performance in Swedish Yorkshire sows. **Animal Reproduction Science**, vol. 11, p.267-230, 2001.

UNTERWEGER, C.; BRUNTHALER, R.; AUER, A.; FUX, R.; WEISSENBACHER-LANG, C.; LADINIG, A.; Reconsideration of the diagnostic criteria required for PCV2 reproductive disease. **The Veterinary Journal**, vol. 272, p.1-3, 2021.

VALENÇA, R. M. B.; MOTA, R. A.; CASTRO, V.; ANDERLINI, G. A.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; BRANDESPIM, D. F.; VALENÇA, S. R. F. A.; GUERRA, M. M. P.; Prevalence and risk factors Associated with *Leptospira* spp. Infection in Technified Swine Farms in the State of Alagoas, Brazil Risk Factors associated with *Leptospira* spp. In Swine Farms. **Transboundary Emerging Diseases**, vol. 09, p. 1-8, 2012.

VAN DEN BORN, E.; VAN DEN ELZEN, P. P. M.; KILSDONK, E. V.; HOEIJMAKERS, J. H.; SEGERS, R. P. A. M.; An octavalent vaccine provides pregnant gilts protection against highly virulent porcine parvovirus strain. **BMC Veterinary Research**, vol. 16:55, p. 1-6, 2020.

VAN DER LEND, T.; KNOL, E. F.; LEENHOUWERS, J. I.; Prenatal development as a predisposing factor for perinatal losses in pigs. **Reproduction Supplement**, vol. 58, p.247-261, 2001.

VAN DER LENDE, T.; VAN RENS, B.T.T.M.; Critical periods for fetal mortality in gilts identified by analyzing the length distribution of mummified foetuses and frequency of non-fresh stillborn piglets. **Animal Reproduction Science**, v. 75, p 141-150, 2003.

VANDERHAEGHE, C.; DEWULF, J.; JOURQUIN, J.; DE KRUIF, A.; MAES, D.; Incidence and Prevention of Early Parturition in Sows. **Reproduction in Domestic Animals**, vol.46, n.3; p. 1-6, 2011.

VANDERHAEGHE, C.; DEWULF, J.; VliegHER, S.; PAPADOPOULOS, G.A.; KRUIF, A.; MAES, D.; Longitudinal field study to assess sow level risk factors associated with stillborn piglets. **Animal Reproduction Science**, vol.120, p.78-83, 2010.

VARELA, A.P.M.; LOIKO, M.R.; ANDRADE, J.S.; TOCHETTO, C.; CIBULSKI, S.P.; LIMA, D.A.; WEBER, M.N.; ROEHE, P.M.; MAYER, F.Q.; Complete genome characterization of porcine circovirus 3 recovered from wild boars in Southern Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, vol.68, p.240-247, 2021.

VARGAS-BERMÚDEZ, D. S.; VARGAS-PINTO, M. A.; MOGOLLÓN, J. D.; JAIME, J. ; Field infection of a gilt and its litter demonstrates vertical transmission and effect on reproductive failure caused by porcine circovirus type 3 (PCV3). **BMC Veterinary Research**, vol. 17, p. 1-10, 2021.

ZHAI, S. L.; ZHOU, X.; ZHANG, H.; HAUSE, B. M.; LIN, T.; LIU, R.; CHEN, Q. L.; WEI, W. K.; LV, D. H.; WEN, X. H.; LI, F.; WANG, D.; Comparative epidemiology of porcine circovirus type 3 in pigs with different clinical presentations. **Virology Journal**, vol.14, p.1-6, 2017.

ZHAI, S.L.; LU, S.S.; WEI, W.K.; LV, D.H.; WEN, X.H.; ZHAI, Q.; CHEN, Q.L.; SUN, Y.W.; XI, Y.; Reservoirs of Porcine Circoviruses: A mini review. **Frontiers in Veterinary Science**, vol. 6, p. 1-6, 2019.

ZHANG, H.H., HU, W.Q., LI, J.Y., LIU, T. N., OPRIESSNIG, T., ZHOU, J.Y., XIAO, C.T.; Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as *Porcine circovirus 4*, Hunan Province, China. **Institute of Pathogen Biology and Immunology**, p.1-15, 2019a.

ZHANG, J.; FAN, J.; LI, Y.; LIANG, S.; HUO, S.; WANG, X.; ZUO, Y.; CUI, D.; LI, W.; ZHONG, Z.; ZHONG, F.; Porcine parvovirus infection causes pig placenta tissue damage involving nonstructural protein 1 (NS1) – induced intrinsic ROS/mitochondria-mediated apoptosis. **Viruses**, vol. 11, p. 1-18, 2019b.

ZHAO, W.; LIU, F.; BELL, A.W.; LE, H.H.; COTTRELL, J.J.; LEURY, B.J.; GREEN, M.P.; DUNSHEA, F.R.; Controlled elevated temperatures during early-mid gestation cause placental insufficiency and implications for fetal growth in pregnant pigs. **Nature Research**, vol.10, p.1-11, 2020.

ZHOU, M.; QU, W.; SUN, Y.; LIANG, L.; JIN, Z.; CUI, S.; ZHAO, K.; Water-soluble N-2-Hydroxypropyl trimethyl ammonium chloride chitosan enhanced the immunogenicity of inactivated porcine parvovirus vaccine vaccination on sows against porcine parvovirus infection. **Immunology Letters**, vol. 223, p. 26-32, 2020.

WALKER, L.R.; ENGLE, T.B.; VU, H.; TOSKY, E.R.; NONNEMAN, D.J.; SMITH, T.P. L.; BORZA, T.; BURKEY, T.E.; PLASTOW, G.S.; KACHMAN, S.D.; CIOBANU, D.C.; Synaptogyrin-2 influences replication of porcine circovirus 2. **Plos Genetics**, vol.10, p. 1-24, 2018.

WAN, S.S.; HENNESSY, D.P.; CRANWELL, P.D.; Seasonal infertility, stress and adrenocortical responsiveness in pigs. **Animal Reproduction Science**. vol.34, p.265-79, 1994.

WANG, H.; HU, C.; CHENG, C.; CUI, J.; JI, Y.; HAO, X.; LI, Q.; REN, W.; DENG, B.; YIN, Y.; DENG, J.; TAN, C.; Unraveling the association of fecal microbiota and oxidative stress with stillbirth rate of sows. **Theriogenology**, vol.136, P.131-137, 2019a.

WANG, Y.; NOLL, L.; LU, N.; PORTER, E.; STOY, C.; ZHENG, W.; LIU, X.; PEDDIREDDI, L.; NIEDERWERDER, M.; BAI, J.; Genetic diversity and prevalence of porcine circovirus type 3 (PCV3) and type 2 (PCV2) in the Midwest of the USA during 2016-2018. **Transboundary and Emerging Diseases**, vol. 67, p.1284-1294, 2019b.

WANG, W.; SUN, W.; CAO, L.; ZHENG, M.; ZHU, Y.; LI, W.; LIU, C.; ZHUANG, X.; XING, J.; LU, H.; LUO, T.; JIN, N.; An epidemiological investigations of porcine

circovirus 3 infection in cattle in Shandong province, China. **BMC Veterinary Research**, vol.15, p.1-8, 2019c.

WEST, K.H.; BYSTROM, J.M.; WOJNAROWICZ, C.; SHANTZ, N.; JACOBSON, M.; ALLAN, G.M.; HAINES, D.M.; CLARK, E.G.; KRAKOWKA, S.; MCNEILLY, F.; KONOBY, C.; MARTIN, K.; ELLIS, J.A.; Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, vol. 11, p.530-532, 1999.

WIENTJES, J.G.M.; SOEDE, N.M.; VAN DER PEET-SCHWERING, C.M.C.; VAN DEN BRAND, H.; KEMP, B. Piglet uniformity and mortality in large organic litters: effects of parity and pre-mating diet composition. **Livestock Science**, vol.144, p.218-229, 2012.

WIGMORE, P.M.M; STICKLAND, N.C. Muscle development in large and small pig fetuses. **Journal of Anatomy**, vol. 137, p.235-245, 1983.

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

WU, G.; OTT, T.L.; KNABE, D.A.; BAZER, F.W. Amino acid composition of the fetal pig. **The Journal of Nutrition**, vol.129, p.1031–8, 1999.

WU, G; BAZER, F.W.; WALLACE, J.M.; SPENCER, T.E. Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. **Journal of Animal Science**, vol.84, p.2316-2337, 2006.

YUAN, L.; LIU, Y.; CHEN, Y.; GU, X.; DONG, H.; ZHANG, S.; HAN, T.; ZHOU, Z.; SONG, X.; WANG, C. Optimized real-time fluorescence PCR assay for the detection of porcine circovirus type 3 (PCV3). **BMC Veterinary Research**, vol. 16, p. 1-5, 2020.

XING, X.; ZHOU, H.; TONG, L.; CHEN, Y.; SUN, Y.; WANG, H.; ZHANG, G.; First identification of porcine parvovirus 7 in China. **Springer – Arch Virology**, p. 1-5, 2017.

XUE, J.L.; DIAL, G.D.; MARSH, W.E.; DAVIES, P.R. Multiple manifestations of season on reproductive performance of commercial swine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, vol. 204, p.1486-1489, 1994.

CAPÍTULO II – DIAGNÓSTICO E PREVALÊNCIA DOS PRINCIPAIS AGENTES INFECCIOSOS EM FETOS NATIMORTOS E MUMIFICADOS PROVINDOS DE GRANJAS COMERCIAIS DE SUÍNOS DO SUL DO BRASIL.

RESUMO

O melhoramento genético de suínos possibilitou o aumento da taxa de ovulação e do número de leitões nascidos por fêmea, por parto. Conjuntamente a essa evolução, notou-se o aumento de perdas gestacionais, devido a causas infecciosas e não infecciosas. Os principais agentes patogênicos associados às falhas reprodutivas em suínos são o circovírus suíno tipo 2 (PCV2), circovírus suíno tipo 3 (PCV3), parvovírus suíno (PPV) e a *Leptospira spp.* De forma a contribuir com os dados de prevalência destes agentes, o presente estudo objetivou investigar a ocorrência de PCV2, PCV3, PPV e *Leptospira* em amostras fetais de granjas comerciais alocadas no sul do Brasil. Foram coletados 158 fetos (88 mumificados, 70 natimortos pré-parto e 1 feto abortado) oriundos de dezesseis (16) unidades produtoras de leitões. As amostras foram submetidas ao exame de PCR e, quando positivas, foram analisadas por meio de histopatologia. Dados referentes a fêmea (ordem de parto e número de nascidos totais) e aos fetos (provável dia gestacional da morte) foram coletados. Os dados foram correlacionados (Teste de Spearman), submetidos a regressão para melhor detecção do modelo de análise e, posteriormente, as razões de chance (OR) foram calculadas para ocorrência dos agentes diagnosticados por meio de PCR. Oitenta e um (51,26%) e 58 (36,70%) das amostras foram positivas no PCR para PCV3 e PCV2, respectivamente, dentre estas, 28 (17,72%) foram positivas para ambos os agentes. Nenhuma amostra foi positiva para PPV e *Leptospira spp.* Apenas sete das amostras positivas (6,3%) apresentaram lesão no exame histopatológico, sendo cinco destas apresentando lesão cardíaca e duas com lesão pulmonar. A variabilidade nas unidades de produção de leitões teve significância ($p < 0,0001$) para ocorrência de PCV2 e PCV3, sendo que há maior OR de ocorrência dos agentes em unidades de produção de leitões distintas.

CHAPTER II – DIAGNOSTIC AND PREVALENCE OF THE MAJOR INFECTIOUS AGENTS IN MUMMIFIED AND STILLBORN FETUSES ORIGINATED FROM COMMERCIAL HERDS IN BRAZIL.

ABSTRACT

The swine breeding programs increased ovulation rate and the number of piglets born per sow, per farrowing. Along with this evolution, there was an increasing of pregnancy losses due infectious and non-infectious causes. The main pathogens associated with reproduction failures in sows are the Porcine Circovirus type 2 (PCV2), Porcine Circovirus type 3 (PCV3), Porcine Parvovirus (PPV) and *Leptospira* spp. To contribute to prevalence data of these agents, the present study aimed to investigate the occurrence of these in fetal samples of commercial herds located in south region of Brazil. A total of 158 fetuses (88 mummified, 70 stillborn pre-partum and one aborted fetus) from sixteen (16) piglet production units were collected. The samples were tested using PCR and, PCR-positive ones were analyzed by histopathology. Data concerning the sow (parity order and number of total born) and the fetuses (day of probable death) were collected. Data were correlated (Spearman test), submitted to regression, for better detection of the analysis model, and, later, odds ratio (OR) were calculated for the occurrence of the agents diagnosed through PCR. Eighty-one (51.26%) and 58 (36.70%) of samples were PCR-positive to PCV3 and PCV2, respectively, and 28 (17.72%) were PCR-positive for both agents. No samples were positive for PPV and *Leptospira* spp. Only seven of the positive samples (6,3%) had lesion in histopathology, five of them had cardiac lesions and two of them with lung lesions. The variability in the piglet production units was significant ($p < 0.0001$) for the occurrence of PCV2 and PCV3, and there is a higher OR for the occurrence of the agents in different piglet production units.

INTRODUCTION

The number of total born piglets per litter increased during the last years due to the sows' genetic improvement (Oliviero et al., 2019). Associated with this, the incidence of reproduction losses, as abortion, mummified fetuses, and stillborn piglets were intensified (Hananberg et al., 2001). The main causes of fetal mortality are multifactorial (Silva et al., 2014) and, may be correlated with the management and genetics of the sows, feeding, environment, as well as the presence of pathogens capable of causing reproductive failure (Christianson, 1992; Shah, 2019). According to Pieroni (2013), fetal mortality is responsible for the loss of at least one weaned piglet per sow per year, presenting substantial importance for swine production.

The occurrence of embryo death and reabsorption, mummies, and stillborn piglets depends on when happened the injury during gestation. Problems right after insemination are associated with embryo mortality, and as consequence, it is observed to return to estrus of the sow (McPherson et al., 2014; Silva et al., 2016). The highest mortality in the gestation period is concentrated in this phase, with only 10 to 20% of deaths occurring after 40 days of gestation (Pope & First, 1985).

At the end of the first third of gestation (approximately 35 days), there is fetus ossification. From that stage onwards, the dead fetuses are no longer reabsorbed, being found as mummies at farrowing (Christianson, 1992). Piglets that die at the end of the gestation period (after 90-100 days) are entitled stillborn (Van der Lende & Van Rens, 2003; Pescador et al., 2010). They can be classified according to when they died – pre-partum, die during delivery and die after delivery (Pescador et al., 2010).

Reproductive issues are included as the principal culling causes in swine herds (Koketsu, 2005). About 60 to 70% of reproductive failure is due to noninfectious causes, and 30 to 40% is due to pathogenic agents (Morés et al., 2011; Lefebvre, 2015). The pathogens associated with reproductive diseases are not always uterus-specific (Shah, 2019).

Porcine parvovirus (PPV) is the principal agent associated with mummified fetus increasing. However, it is controlled through vaccination disease and, currently, issues are seen only in cases of vaccine failure (Christianson, 1992). Other agents are capable to cross the placental barrier, causing reproductive problems, such as Classic Swine Fever, Aujeszky, and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) viruses (Pensaert et al., 2004), but all these are not described for several years in the

South region (PRRSV has never been described), and Brazil have programs of periodic monitoring for all of them (BRASIL, 2013; BRASIL, 2020).

Recent research had reported the presence of porcine circovirus 3 (PCV3) in mummified fetus samples (Cezario, 2019). The pathogen can cause several clinical signs and lesions in swine, such as reproductive, respiratory, and enteric disorders, multi-systemic inflammation, and immunological response (Cheng et al., 2021). As PCV3, the porcine circovirus 2 (PCV2) could spread intrauterinely (Pensaert et al., 2004) and is also related with increasing of late abortion, mummified fetuses, and stillborn piglets (Sanchez et al., 2001; Segalés et al., 2004; Saha et al., 2010; Sidler et al., 2020).

Leptospirosis is a zoonotic disease that has worldwide distribution and can affect several species (Gonçalves & Costa, 2010). The chronic form of the disease could cause reproductive disorders, mainly at the final third of gestation (Lee et al., 2017). Reporting of leptospirosis in herds is not common, however, the clinical form is not always present, and the swine may be an asymptomatic vector (Bertelloni et al., 2018).

The present study aimed to identify and evaluate the involvement of pathogens in mummified and stillborn swine fetuses in commercial herds located in the South region of Brazil, to establish a precise diagnosis based on the identification of histopathological lesions in tissues and with real-time PCR technique for the detection of viral DNA, when present in the samples.

MATERIAL AND METHODS

The study was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals at the Federal University of Paraná (CEUA/UFPR). Mummified (n=88), stillborn (n=70), and aborted (n=1); n total=159 fetuses of 16 piglet production units from Paraná (n=13) and Santa Catarina (n = 3) states were used in the study. Stillborn fetuses were classified as type I or pre-partum, according Pescador et al. (2010). The size of the herd ranged from two thousand females to ten thousand according to the sampling performed.

In six of the herds, gilts and sows are routinely vaccinated against PPV, PCV2 and *Leptospira*, while in ten of them are vaccination are performed only against PPV and *Leptospira*.

Fetal collections were performed on the days with the highest number of farrowing in each herd. Therefore, the number of samples per herd varied according to the herd size and management of the farm. A total of 159 samples were collected from all the farms. This included mummified (88), pré-partum (70) and aborted (1) fetuses. The fetuses were collected right after birth, and they were packed in isothermal boxes to be transported to the Cedisa Laboratory (Concórdia, Santa Catarina, Brazil). Clinical, reproductive, and vaccination historical data of the sampled sows were recorded.

All the analyses were conducted at Cedisa Laboratory (Concórdia, Santa Catarina, Brazil). When the fetuses arrived, they were weighed with electronic kitchen scale®, measured, and submitted to necropsy. Mummified fetus measurements were performed according to Muirhead & Alexander (1997), to estimate when the intrauterine death occurred. The necropsy consisted of an external evaluation of skin and mucosa color, and internal evaluations of subcutaneous, joints, and muscle tissues as well as congenital abnormalities (CDMA, 2013). Internal evaluation of fetuses was made through the exposure of the thoracic and abdominal cavities. The presence of hemorrhage, pleural, and/or abdominal effusions were identified, and the inspection of the lymphatic chains was made, paying attention to their color and size (CDMA, 2013). All necropsy material was changed, and tweezers were flamed between each necropsied fetus to avoid contamination of the tissues.

Tissue fragments from heart, lungs, spleen, liver, and kidneys were collected and pooled per fetuses, mechanically disrupted, homogenized in 10% phosphate – buffered saline at pH 7.2, and clarified by centrifugation at 2000g /10 min. The samples were tested using PCR, and the positives were submitted to histopathology to confirm whether the agent identified in the tissue was responsible for the lesions. The PCR analyses were conducted with a negative and positive control to confirm that the sample of the reaction and extraction were positive or negative for validation test and diagnostic.

The following tests were performed: nested-PCR and histopathology for PPV (Rocha, 2010), PCR + histopathology + immunohistochemistry (IHC) (Olvera et al.,

2004) for PCV2, PCR + histopathology (Franzo et al., 2018) for PCV3, and PCR (Bioclin®) + histopathology for *Leptospira spp.*

Nine of 158 observations were excluded due to some lack of information about the female history. Parity order, live and total born piglets, piglet production unit, and day of fetal mortality were categorized (Table 1) since they were not normally distributed ($p < 0.05$). Data were submitted to the Spearman correlation test, to verify which variables (fetus weight and measurement, mummified, stillborn, parity order, total and live born piglets, piglet production unit and piglet and sow vaccination) present the highest correlation, and, consequently, greater explanatory power in the regression analysis. Subsequently, regression analysis was performed using the forward method. To assess the significance of the variable (p -value < 0.05), the Chi-Square test was used and for the selection of the model, the one that presented the lowest residual deviation was used. Data were analyzed using R software v.4.0.2 (R Core Team, 2021).

Table 1. Data categorization of variables.

Variable	Groups	Description
Day when fetus died	DWFD ≤ 60	Fetus that died before day 60 of gestation
	DWFD 61-90	Fetus that died between day 60 and 90 of gestation
	DWFD > 90	Fetus that died after day 90 of gestation
Number of total born	TB1	Litter size contain less or 15 piglets
	TB2	Litter size contain between 16 to 20 piglets
	TB3	Litter size contain more than 20 piglets
Number of live born piglet	LB1	Litter size contain less or 15 piglets
	LB2	Litter size contain more than 15 piglets
Sow parity order	PO1	Parity order minor than 5
	PO2	Parity order bigger or equal to 5
Piglet production unit City where units are located	PPU1	Carambeí (n=34)
	PPU2	Itaipulândia (n=26)
	PPU3	Santa Helena (n=24)
	PPU4	Other (n=74): Arroio Fundo (n=12); Carajás (n=6); Carijós (n=9); Central (n=7); Formosa

(n=15); Ouro Verde (n=7); Papanduva (n=3);
Serranópolis do Iguaçu (n=11) e; Toledo
(n=4)

The name of the groups is an abbreviation of the evaluated variables. TB – number of total born; LB – number of live born; PO – number of parity order; PPU – Piglet production unit;

RESULTS

Eighty-one (54%), and 58 (38,66%) samples of mummified, and stillborn fetuses were PCR-positive for PCV3 and PCV2, respectively. Twenty-eight (18,66%) of them were positive for both agents. No fetuses were positive for PPV and *Leptospira spp.*

Only four samples positive for PCV3, one positive for PCV2, and two positives for PCV2 and PCV3 presented suggestive histopathologic lesions indicative of infection (Table 2). All samples with histopathological lesions were submitted to IHC for investigation of PCV2, but all them tested negative for the agent. The laboratory did not tested the samples for PCV3 because of the absence of the test.

Table 2. Histopathological lesions found in samples of mummified and stillborn fetuses positive for porcine circovirus type 2 (PCV2), and porcine circovirus type 3 (PCV3)

Pathogen	Sample	Organ	Lesion
PCV2	Mummy	Heart	Discrete multifocal infiltrate of lymphocytes in the pericardium
PCV2/PCV3	Mummy	Heart	Multifocal to moderate lymphocyte infiltrate
PCV3	Stillborn	Heart	Multifocal to moderate infiltration of plasma cells, macrophages, and lymphocytes around blood vessels
PCV3	Stillborn	Heart	Infiltration of plasma cells, lymphocytes, and macrophages in the pericardium.
PCV3	Stillborn	Lung	Presence of moderate edema and hemorrhage
PCV3	Stillborn	Heart	Discrete multifocal infiltrate of lymphocytes and plasma cells interspersed in the myocardium

PCV2/PCV3	Mummy	Lung	Moderate alveolar edema
-----------	-------	------	-------------------------

For PCV2 final model, piglet production unit ($p < 0.0001$), and occurrence of mummified fetus ($p < 0.013$) were significant. For PCV3 final model, piglet production unit ($p < 0.0001$) and total born piglet ($p < 0.0017$) were significant. Associated measurement for the final model is described in Table 3. The odds ratios of being positive for PCV2 by piglet production unit or mummified fetus groups, and of being positive for PCV3 by piglet production unit or total born piglet groups were calculated (Table 4). The higher values of PCV2 (PPU1 x PPU4) and PCV3 (PPU1 x PPU2) odds ratios were between units. It indicates that the chance of a fetus of PPU1 having PCV2, versus a fetus from PPU4 not having is 12.37 times, with a confidence interval of 4.40 to 34.78. The same applies for PCV3, where the chance of a fetus from PPU1 having PCV3, versus a fetus from PPU2 not having is 97.48 times, with a confidence interval of 17.86 to 531.85.

Table 3. Associated measurements of final model for porcine circovirus 2 and 3.

Measurements	PCV2 (%)	PCV3 (%)
Predictive value	70.46	77.85
Positive predictive value ^a	61.01	80.30
Negative predictive value ^b	76.67	75.90
False positive value ^c	25.00	17.10
False negative value ^d	36.84	27.39
Sensibility ^e	63.15	72.60
Specificity ^f	75.00	82.89

^a probability of fetus being positive when PCR-result is positive.

^b probability of fetus being negative when PCR-result is negative.

^c proportion of fetus that do not have the disease, but PCR-result is positive.

^d proportion of fetus that have the disease, but PCR-result is negative.

^e probability of the final model being positive, and the fetus is positive - indicates the ability of the test to correctly identify those fetuses who have the disease among all the tested fetuses.

^f probability of the final model being negative, and the fetus is negative - indicates the ability of the test to correctly identify those fetuses who do not have the disease among all the tested fetuses.

Table 4. Odds ratios (OR), inferior (IL), and superior (SL) limits of odds ratio interval for fetus being positive for PCV2 and PCV3, according to categorized groups.

PCV2			
Groups	OR (%)	IL (%)	SL (%)
PPU1 x PPU2	6.54	2.00	21.32
PPU1 x PPU3	2.79	0.79	9.85
PPU1 x PPU4	12.37	4.40	34.78
PPU2 x PPU3	2.34	0.58	9.33
PPU2 x PPU4	1.89	0.67	5.28
PPU3 x PPU4	4.43	1.35	14.54
Mummified fetuses	3.18	3.18	8.15
PCV3			
PPU1 x PPU2	97.48	17.86	531.85
PPU1 x PPU3	31.16	7.04	137.78
PPU1 x PPU4	5.30	1.57	17.87
PPU2 x PPU3	3.12	0.66	14.74
PPU2 x PPU4	18.37	4.66	72.40
PPU3 x PPU4	5.87	1.93	17.79
TB1 x TB2	6.66	2.14	20.68
TB1 x TB3	2.55	0.82	7.92
TB2 x TB3	2.61	0.93	7.28

PPU - piglet production unit

TB - total born piglet

The other variables not were presented in the results because none of them showed significance after statistical analysis.

DISCUSSION

As the present study, other authors have associated the occurrence of fetal mortality with PCV2 and PCV3 infections. PCV3 was identified in cases of abortion and, was correlated with increasing of mummified and stillborn fetuses in Hungary

(Deim et al., 2019). In Brazil, Rocha et al. (2008) found 50.3% of fetuses positive for PCV2, Dal Santo et al. (2020) and Assao et al. (2021) identified 97% and 51.72% of mummified and stillborn fetuses' samples positive for PCV3 DNA, respectively. Coinfections were described in 6.2% (PCV2 and PPV; Rocha et al., 2008), and 93.1% of samples (PCV3, PPV, PCV2, or *Leptospira spp.*; Dal Santo et al., 2020).

Although the high prevalence of PCV3 in the studies, few samples presenting tissue lesions were observed in histopathology. Deim et al. (2019) did not identify a lesion in positive fetuses' tissue, while Arruda et al. (2019) described only two (10%) samples presenting lymphocytic myocarditis. Using *in situ* hybridization (ISH) technique, Arruda et al (2019) observed PCV3 positivity in five samples of cardiac and smooth muscle tissue. The use of ISH is indicated for a more accurate diagnosis since this test presents higher sensibility than immunohistochemistry (IHC) (Christopher-Hennings et al. 2019). It was detected antigen in skin, kidney, lungs, lymph node, and artery of multiple organs using ISH (Palinski et al., 2016; Saporiti et al., 2021).

Myocarditis is the main lesion related to PCV2 and PCV3 infection associated with reproductive failure (Opriessnig, 2007; Phan et al., 2016; Arruda et al., 2019; Diaz et al., 2020). In the present study, five of seven samples had inflammatory infiltrate - ranging from mild to moderate multifocal - presenting lymphocytes, plasm cells, or macrophages in heart tissue. These characteristics indicate a chronic inflammation with a local antigenic stimulus (Werner, 2017).

Interstitial pneumonia is not described in many PCV3 cases, but one lung sample of PCV2 and PCV3 co-infection presented moderate alveolar edema and another lung sample, only with PCV3, presented edema and hemorrhage. These results indicate the possibility of the virus causing inflammatory activity and reinforce the necessity of analyse all samples including the negative one. According to Sirisereewan et al. (2022), there are three mechanisms of PCV3 action to cause inflammatory disease: a) virus induces apoptosis; b) virus activates a type III hypersensitivity reaction with formation of immunocomplex; or c) virus activates a type IV hypersensitivity reaction.

The fact of fetuses was PCR-positive for PCV2 and PCV3 does not indicate that these viruses were the true cause of their death, but not exclude that to. Vargaz-Bermúdez et al. (2021) suggest that the occurrence of the disease is associated with the viral load present in the animal and the strain in the herd. Authors found 10^3 (4.93 log genomic copies / mL) in gilt with clinical signs and Palinski et al. (2016) of $7.57 \times$

10^7 in aborted fetuses. For this reason, PCV3 diagnosis should be based on clinical information, the presence of the pathogen or antigen in the tissue, plus lesions identified by ISH or IHC (Christopher-Hennings et al., 2019).

The chance of a fetus being positive for PCV2 and PCV3 varied among the units. Probably, it may be explained by individual factors of each unit, mainly related to biosecurity programs, concomitant immunosuppressive diseases, management, size of the herd, and animal flow (Stadejek et al., 2017). In this study, smaller litters (total born ≤ 15) were shown to have higher odds ratios to be positive for PCV3 than bigger litters (TB > 15 piglets). The explanation of this phenomenon is not clear; however, it could be related to sows' characteristics, as parity order (Kedkovid et al., 2018), since TB1 (PO = 3.63 ± 1.82) has a numerical lower average than TB2 (PO = 4.9 ± 2.46).

Corroborating with the present result, Fux et al. (2018) showed that PCV2 and PCV3 prevalence were not influenced by the vaccination status. Despite the recent discovery of PCV3 as a cause of disease in swine, Rodrigues et al. (2020) demonstrated in their retrospective study (1967-2018) that there were already positive samples for PCV3 in Brazil in 1967. They report the existence of two different genotypes (PCV3a and PCV3b), possibly associated with different moments of virus introduction in Brazilian herds.

Porcine parvovirus and *Leptospira spp.* were not identified as pathogens responsible for fetus mortality in the present study. In Brazil, the disease caused by PPV1 is largely controlled by vaccination, thus reducing reproductive clinical signs, particularly on fetal mummification (Ruiz et al., 2017). Contrary of our results, *Leptospira spp.* prevalence (22%) has been described in fetuses from herds located in the South region of Brazil (Herdt et al., 2019). The absence of *Leptospira spp.* may be due to the advances in biosecurity programs focused on vaccination, periodic monitories, and pest and rodent control.

Non-infectious factors are the main cause of fetal mortality (Morés et al., 2011; Lefebvre, 2015) and should be considered in the diagnosis. Usually, the presence of mummies is associated with failures in animal management, nutritional and environmental factors (Lefebvre, 2015), in addition to compromised uterine capacity (Pere et al. 1997), and the occurrence of large litters (Borges et al., 2005). About 75% of stillbirths occurred during the farrowing, and it is related to long-term births, dystocia (Leenhouders et al., 1999), and use of exogen oxytocin in sows with myometrial

contraction (González-Lozano et al., 2009; Nam & Peerapol, 2020). In these cases, the piglet suffers asphyxia in the birth canal, which can cause immediate death or reduced viability after birth, favoring postpartum stillbirth or mortality in the first days of life (Herpin et al., 2001; Alonso-Spilsbury et al., 2005).

Usually, early embryonic mortality is related to maternal issues (Pope & First, 1985; Wientjes et al., 2013; Silva et al., 2016) and seasonal infertility (Peltoniemi et al., 2000). Nonetheless, infectious causes, such as PCV2 and PCV3 infection, should be investigated. Embryo death is more difficult to be diagnosed because they are reabsorbed until 35 days of gestation, approximately (Christianson, 1992). The challenge remains for future studies to relate embryonic death to PCV2 and PCV3 infection and lesions.

CONCLUSIONS

Summarizing this study, we agree that is needed more investigations about the circulation of PCV3 and your clinical impacts on swine industry. Despite, the PCR analysis shown the DNA of the virus, the histopathological technique didn't show the described characteristic lesions in the collected samples. This fact reinforces the necessity of more scientific researches to uncover the pathogenic level and the biosecurity measures for being implemented in commercial swine herds aiming to reduce all damages.

The macroscopic lesions are not common in aborted, mummified and stillborn fetuses during the necropsy. Therefore, the histopathological test is extremely important for determined if there is or there isn't any presence of some infectious agents. All the veterinarians should include this particular test in your routine of diagnostic.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As causas infecciosas de falhas reprodutivas são extremamente relevantes na produção de suínos e, por ter um aspecto dinâmico, as infecções e patógenos podem demonstrar variações em termos epidemiológicos, de sinais clínicos e lesões ao longo dos anos. Nesse sentido, a atualização de dados referentes aos patógenos causadores de problemas reprodutivos é de extrema importância, a fim de reconhecer e minimizar os efeitos negativos destes a campo.

Uma das informações de importância do presente estudo retrata a ausência de patógenos clássicos de alterações reprodutivas em fetos mumificados, natimortos pré-parto e abortado. Levantamentos de dados anteriores apresentavam diagnóstico de *Leptospira sp* e parvovírus suíno com certa frequência, porém, estes não foram encontrados nas amostras estudadas. Provavelmente, este resultado está associado a protocolos vacinais e medidas de biossegurança adequados.

Assim como estudos prévios, o PCV2 e PCV3 foram associados a mortalidade fetal por meio da técnica de PCR, no entanto não foram evidenciadas lesões histopatológicas para diagnóstico confirmatório do agente causal. Todavia, torna-se de extrema importância considerar estes patógenos em casos de aumento de perdas gestacionais e, estudos futuros devem buscar elucidar a verdadeira importância destes agentes para os índices reprodutivos, bem como sua patogenia.

REFERENCES

1. Oliviero C, Junnikkala S, Peltoniemi O. The challenge of large litters on the immune system of the sow and the piglets. *Reprod Domest Anim.* 2019; 54:12-21.
2. Hanenberg EHET; Knol EF; Merks JWM. Estimates of genetic parameters for reproduction traits at different parities in Dutch Landrace pigs. *Livest Prod Sci*, 2001;69:179-186.
3. Silva GS, Lana MVC, Dias GBG, Cruz RAS, Lopes LL, Machado G, Coberllini LG, Gava D, Souza MA, Pescador CA. Case-control study evaluating the sow's risk factors associated with stillbirth piglets in Midwestern in Brazil. *Trop Anim Health Prod*, 2014;47(2):445-449. DOI: 10.1007/s11250-014-0745-8.

4. Christianson WT. Stillbirths, mummies, abortions, and early embryonic death. *Veterinary Clinics of North America. Food Anim Pract*, 1992;8:623-639.
5. Shah BR. Factors leading to early embrionic death. *Inst Agric Anim Sci*, 2019:118-128.
6. Pieroni PMRL. Estimativa do Peso de fetos suínos por meio do exame ultrassonográfico. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Lavras – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, p. 1-52, 2013.
7. Mcpherson FJ, Nielsen SG, Chenoweth PJ, Seminal factors influencing return to estrus in female pigs following artificial insemination. *Anim Reprod*, 2014; 11:24-31.
8. Silva CLA, Van Den Brand H, Laurensen BFA, Broekhujse MLWJ, Knol EF, Kemp B. Relationships between ovulation rate and embryonic and placental characteristics in multiparous sows at 35 days of pregnancy. *Anim*. 2016; 10:1192–1199.
9. Pope WF, First NL. Factors affecting the survival of pigs embryos. *Theriogenology*, 1985;23:91-105.
10. van der Lende T, van Rens BTTM. Critical periods for fetal mortality in gilts identified by analyzing the length distribution of mummified foetuses and frequency of non-fresh stillborn piglets. *Anim Reprod Sci*, 2003;75:141-150. DOI: S0378-4320(02)00229-4.
11. Pescador CA, Bandarra PM, Antoniassi NAB, Santos AS, Oliveira EC, Barcellos DESN, Driemeier D. Metodologia aplicada na avaliação de fetos suínos abortados e natimortos. *Pesq Vet Bras*, 2010;30:1058-1063.
12. Koketsu Y. Six component intervals of nonproductive days in breeding-female pigs on commercial farms in Japan. *J Anim Sci*, 2005;83:1406–1412.
13. MORÉS N, ROCHA CS, RITTERBURSCH GA, LIMA ES, BORDIN LC, AMARAL AL, COLDEBELLA A, ZANELLA JRC. Causas Infeciosas de problemas reprodutivos na produção de suínos. Embrapa: Comunicado Técnico, 2011;498:1-9.
14. Lefebvre RC. Fetal mummification in the major domestic species: current perspectives on causes and management. *Vet Med: Res Rep*, 2015;6:233-244. DOI: 10.2147/VMRR.S59520.
15. Pensaert MB, Sanchez JR RE, Mikkelsen ASL, Allan GM, Nauwynck HJ. Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet Mic*, 2004;98:175-183. DOI: 10.1016/j.vetmic.2003.10.011.
16. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 11, DE 6 DE ABRIL DE 2020. Brasília, Diário da União, 2020.

Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/sanidade-suidea/arquivos-suideos/2020in11de06deabrilde2020-altera-a-in-19-de-2002-grsc.pdf>>. Acesso em abr. 2022.

17. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013. Brasília, Diário da União, 2013. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/sanidade-suidea/legislacao-suideos/2013IN50de24desetembre.pdf>>. Acesso em abr 2022.

18. Cezario KC. Detecção molecular de parvovírus suíno, circovírus suíno tipo 2 e 3, e *Leptospira sp* em fetos suínos mumificados na região sul do Brasil. Dissertação de Mestrado – Universidade do Oeste de Santa Catarina, Xanxerê – SC, p. 1-37, 2019.

19 Cheng S, Zhang L, Li X, Niu G, Ren L. Recent progress on epidemiology and pathology of porcine circovirus 3. *Viruses*, 2021;13:1-10.

20. Sanchez JR RE, Nauwynck HJ, Mcneilly F, Allan GM, Pensaert MB. Porcine circovirus 2 infection in swine fetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet Mic*, 2001;83:169-176.

21. Segalés J, Rosell C, Domingo M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet Mic*, 2004;98:137-149.

22. Saha D, Lefebvre DJ, Doorselaere JV, Atanasova K, Barbé F, Geldhof M, Karniychuck UU, Nauwynki HJ. Pathologic and virologic findings in mid-gestational porcine fetuses after experimental inoculation with PCV2a or PCV2b. *Vet Mic*, 2010;145:62-68.

23. Sidler X, Sydler T, Mateos JM, Klausmann S, Brugnera E. Porcine Circovirus Type 2 Pathogenicity Alter's Host's Central Tolerance for Propagation. *Pathogens*, 2020;9(10):1-17. DOI:10.3390/pathogens9100839.

24. Gonçalves LMF, Costa FAL. Leptospiroses em Suínos no Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, 2011;40:1-14.

25. Lee HS, Khong NV, Xuan HN, Nghia VB, Nguyen-Viet H, Grace D. Sero-prevalence of specif *Leptospira* serovars in fattening pigs from 5 provinces in Vietnam. *BMC Vet Res*, 2017;13:1-7. DOI: 10.1186/s12917-017-1044-1.

26. Bertelloni F, Turchi B, Vattiata E, Viola P, Pardini S, Cerri D, Fratini F. Serological survey on *Leptospira* infection in slaughtered swine in North-Central Italy. *Epidemiol infect*, 2018;146:1275-1280.

27. Muirhead MR, Alexander TJL. Reproduction: non infectious infertility. In: Muirhead MR, Alexander TJL. (Eds.). *Managing pig health and the treatment of disease. A reference for the farm.* Sheffield: 5M Enterprises. pp. 133-162, 1997.
28. Centro de Diagnóstico e Monitoramento Animal (CDMA), *Manual de Colheita de Amostras de suínos e testes laboratoriais*, Belo Horizonte – MG, 2013. Acesso em: <http://www.cdmalaboratorio.com.br>.
29. Rocha DL, Alberton GC, Santos JL. Identificação do circovirus suíno tipo 2 e do parvovírus suíno em fetos suínos natimortos e mumificados provenientes de granjas no Brasil. *Ciênc Anim Bras*, 2010;11:600-606. DOI: 10.5216/cab.v11i3.5403.
30. Olvera A, Sibila M, Calsamiglia M, Segalés J, Domingo M. Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *J Virological Methods*, 2004;117:75-80.
31. Franzo G, Legnardi M, Centelleghé C, Tucciarone CM, Cecchinato M, Cortey M, Segalés J, Drigo M. Development and validation of direct PCR and quantitative PCR assays for the rapid, sensitive and, economical detection of porcine circovirus 3. *J Vet Diagn Invest*, 2018;30:538-544.
32. R Core Team (2021). *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
33. Deim J, Dencso L, Erdelyi I, Valappil SK, Varga C, Pósa A, Makrai L, Rakhely G, Porcine circovirus type 3 detection in a Hungarian pig farm experiencing reproductive failures. *Vet Rec*, 2020;185(3):1-4. DOI: 10.1136/vr.104784.
34. Dal Santo AC, Cezario KC, Bennemann PE, Machado SA, Martins M, Full-genome sequences of porcine circovirus e (PCV3) and high prevalence in mummified fetuses from commercial farms in Brazil. *Microb Pathog*, 2020;141:1-5.
35. Assao VS, Santos MR, Rosado NCL, Bressan GC, Fietto JLR, Chang YF, Vidigal PMP, Silva-Júnior A. Genetic diversity of porcine circovirus 3 strains and the first detection of two different PCV3 strains coinfecting the same host in Minas Gerais, Brazil. *Arch Virol*, 2021;166:1463-1468.
36. Arruda B, Pineyro P, Derscheid R, Hause B, Byers E, Dion K, Long D, Sievers C, Tangen J, Williams T, Schwartz K. PCV3 – Associated disease in the United States swine herd. *Emerg Microbes Infect*, vol. 8, p. 684-698, 2019. DOI: 10.1080/22221751.2019.1613176.

37. Christopher-Hennings J, Erickson GA, Hesse RA, Nelson EA, Rossow S, Scaria J, Slavic D. Diagnostic Tests, Test Performance, and Considerations for Interpretation. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J. Diseases of Swine, p.75–97, 2019.
38. Palinski R, Pineyro P, Shang P, Yuan F, Guo R, Fang Y, Byers E, Hause B M. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure. J Virol, 2016;91:1-14. DOI: 10.1128/JVI.01879-16.
39. Saporiti V, Franzo G, Sibila M, Segalés J. Porcine circovirus 3 (PCV-3) as a causal agent of disease in swine and a proposal of PCV-3 associated disease case definition. Transbound Emerg Dis, 2021;68(6):2936-2948.
40. Opriessnig T, Meng XI, Halbur PG. Porcine circovirus type 2 – associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. J Vet Diagn Invest, 2007;19:591-615.
41. Phan TG, Giannitti F, Rossow S, Marthaler D, Knutson T, Li L, Deng X, Resende T, Vanucci F, Delwart E. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multy-systemic inflammation. Virol J, 2016;13:1-8. DOI: 10.1186/s12985-016-0642-z.
42. Diaz JM, Pineyro P, Shen H, Schwartz K, Vannuci F, Li G, Arruda B, Lirola LG. Isolation of PCV3 from Perinatal and Reproductive Cases of PCV3 – Associated Disease and In Vivo Characterization of PCV3 Replication in CD/CD Growing Pigs. Viruses, 2020;12:1-21. DOI: 10.3390/v12020219.
43. Werner PR. Patologia geral veterinária aplicada. Cap. 10, p.233-170, Inflamação. Editora Roca Ltda, São Paulo, 2017.
44. Resende TP, Lund LM, Rossow S, Vannucci FA. Next – Generation Sequencing coupled with *in situ hybridization*: A novel diagnostic platform to investigate swine emerging pathogens and new variants of endemic viruses. Front. Vet. Sci, 2019;6:1-6.
45. Sirisereewan C, Thanawongnuwech R, Kedkovid R. Current understanding of the pathogenesis of porcine circovirus 3. Pathogens, 2022;11:1-16.
46. Vargas-Bermúdez DS, Vargas-Pinto MA, Mogollón JD, Jaime J. Field infection of a gilt and its litter demonstrates vertical transmission and effect on reproductive failure caused by porcine circovirus type 3 (PCV3). BMC Vet Res, 2021;17(150). DOI: 10.1186/s12917-021-02862-5.

47. Stadejek T, Milek D, Wozniak A. First detection of porcine circovirus type 3 (PCV3) on commercial pig farms in Poland. *Transbound Emerg Dis*, 2017;64:1350-1353. DOI: 10.1111/tbed.12672.
48. Kedkovid R, Woonwong Y, Arunorat J, Sirisereewan C, Sangpratum N, Lumyai M, Kedsangsakonwut S, Teankum K, Jittimane S, Thanawongnuwech T. Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC). *Vet Microbiol*, 2018;215:71–76.
49. Fux, R.; Söckler, C.; Link, E. K.; Renken, C.; Krejci, R.; Sutter, G.; Ritzmann, M.; Eddicks, M. Full genome characterization of porcine circovirus type 3 isolates reveals the existence of two distinct groups of virus strains. *Virology*, 2018;15:1-9 2018.
50. Rodrigues ILF, Cruz ACM, Souza AE, Knackfuss FB, Costa CHC, Silveira RL, Castro TX. Retrospective study of porcine circovirus 3 (PCV3) in swine tissue from Brazil (1967-2018). *Vet Microb*, 2020;51:1391-1397.
51. Ruiz VLA, Ogata RA, Bersano JG, Catroxo MHB. Parvovirose suína. *Boletim Técnico do Instituto Biológico*, n. 31, 2017, 22p.
52. Herdt G, Maciel AE, Martins M, Tonin AA, Vanazzi DL, Martins D, Baldasso NB, Giardini LK, Machado SA, Bennemann PE. High prevalence of porcine circovirus 2, porcine parvovirus, and pathogenic leptospirae in mummified swine fetuses in Southern Brazil. *Cienc Rural*, 2019;9(4):e20180965.
53. Pere M, Dourmad JT, Etienne M. Effect of number of pig embryos in the uterus on their survival and development and on maternal metabolism. *J Anim Sci*, 1997;75:1337-1342.
54. Borges VF, Bernardi ML, Bortolozzo FP, Wentz I. Risk factors for stillbirth and foetal mummification in four Brazilian swine herds. *Prev Vet Med*, 2005;70:165-176. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2005.03.003.
55. Leenhouders JI, Van Der Lende T, Knol EF. Analysis of stillbirth in different lines of pig. *Livest Prod Sci*, 1999;57:243-253.
56. González-Lozano M, Mota-Rojas D, Velázquez-Armenta EY, Nava-Ocampo AA, Hernández-González R, Becerril-Herrera M, Trujillo-Ortega ME, Alonso-Spilsbury M. Obstetric and fetal outcomes in dystocic and eutocic sows to an injection of exogenous oxytocin during farrowing. *Can Vet J*, 2009;50(12):1273-1277.
57. Nam NH, Peerapol S. Risk factors associated with stillbirth of piglets born from oxytocin-assisted parturitions. *Vet World*, 2020;13:2172-2177.

58. Herpin P, Hulin JC, Le Dividich J, Fillaut M. Effect of oxygen inhalation of birth on the reduction of early postnatal mortality in pigs. *J Anim Sci*,2001;79:5-10.
59. Alonso-Spilsbury M, Mota-Rojas D, Villanueva-Garcia D, Martínez-Burnes J, Orozco H, Ramírez-Necoechea R, Mayagoitia AL, Trujillo ML. Perinatal Asphyxia pathophysiology in pig and human: A review. *Anim Reprod Sci*, 2005;90:
60. Wientjes JGM, Soede NM, Knol EF, Van Den Brand H, Kemp B. Piglet birth weight and litter uniformity: effects of weaning-to-pregnancy interval and body condition changes in sows of different parities and crossbred lines. *J Anim Sci*, 2013;91:2099-2107.
61. Peltoniemi OAT, Tast A, Love RJ. Factors effecting reproduction in the pig: seasonal effects and restricted feeding of the pregnant gilt and sow. *Anim Reprod Sci*, 2000;60-61:173-84.