



Estudo da Ocorrência de Circovírus Suíno tipo 2 (PCV2) em Suínos Vivos ou em Materiais com Suspeita Clínica de Circovirose Suína Enviados para Diagnóstico

Janice Reis Ciacci-Zanella¹
Nelson Morés²
Lana Teixeira Fernandes³
Simone S. Bassi⁴
Cristiano Trombetta⁵
Marisete Fracasso Schiochet⁶

Introdução

A circovirose suína é uma infecção por circovírus suíno tipo 2 (PCV2), identificada pela primeira vez no Canadá em 1991 e desde então tem sido descrita em vários países inclusive no Brasil, sendo considerada, atualmente, como uma doença de distribuição mundial. A síndrome multisistêmica do definhamento dos suínos (SMD) é a manifestação da circovirose suína mais conhecida e é caracterizada por perda de peso progressiva, sintomas respiratórios e digestivos, aumento de volume de linfonodos, anemia e icterícia. As lesões patológicas incluem inflamações de vários órgãos, como linfonodos, pulmões, fígado, rins, pâncreas e, principalmente necrose do tecido linfóide com conseqüente redução na resistência dos animais à outras doenças. Antígenos e DNA do PCV2 podem ser demonstrados em órgãos de suínos com SMD. Para o diagnóstico definitivo de SMD deve-se considerar três fatores: a) a doença clínica, b) a lesões macro

e microscópicas, c) e, mais importante, a associação de PCV2 (antígeno ou DNA) com essas lesões. O objetivo principal desse trabalho foi avaliar a frequência de diagnósticos de circovirose em suínos ou materiais enviados ao Laboratório de Sanidade da Embrapa Suínos e Aves nos anos de 2000 a 2003, comparar os resultados dos testes laboratoriais e associar a ocorrência do PCV2 ao diagnóstico clínico, patológico e virológico e confirmar sua associação à SMD.

Estudo realizado

No período entre janeiro de 2000 a outubro de 2003, 152 amostras de órgãos de suínos ou suínos vivos (99 somente em 2003) provenientes de 74 rebanhos suínos foram submetidos a diagnóstico laboratorial para circovirose suína no Laboratório de Sanidade da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC. Para realizar o diagnóstico de leitões provenientes de rebanhos com

¹Méd. Vet., Ph.D. Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves.

²Méd. Vet., M.Sc. Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves.

³Méd. Vet., M.Sc. Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia - GO.

⁴Bióloga, estagiária, convênio Embrapa Suínos e Aves e Universidade do Contestado - UnC - Concórdia, SC.

⁵Biólogo, estagiário, convênio Embrapa Suínos e Aves e Universidade do Contestado - UnC - Concórdia, SC.

⁶Auxiliar de Operações III - Embrapa Suínos e Aves.

histórico de emagrecimento progressivo, refugagem e mortalidade na creche e início de crescimento, foram solicitados animais entre 5 a 12 semanas de idade. Os suínos eram examinados e a necrópsia era realizada para observação de lesões macroscópicas e colheita de materiais para exames histopatológicos, virológicos ou bacteriológicos, se necessário. Para o exame histopatológico eram coletados (ou submetidos) órgãos linfóides como amígdala, timo, baço, linfonodos (inguinais e mesentéricos), íleo (placas de Peyer), pulmões, fígado, rins, coração e encéfalo, fixados em formalina 10% tamponada. Para comprovar a presença de DNA de PCV2 através da nested-PCR (reação em cadeia da polimerase - interna), fragmentos desses mesmos órgãos também foram enviados para exames virológicos. Este exame também foi realizado quando solicitado por clientes externos, após a suspeita clínica e / ou exame histopatológico preliminar. Fragmentos de órgãos suínos foram submetidos à extração de DNA pelo método da proteinase K. Nesse estudo, dois protocolos de nested-PCR foram empregados utilizando seqüência de primers específica para PCV2.

Resultados e comentários

No total de 152 amostras, 82 amostras de órgãos (ou leitões vivos) foram submetidos à necropsia, exames histopatológicos e nested-PCR. Vinte e cinco foram submetidos apenas à histopatologia e 45 submetidos apenas para teste de nested-PCR. Na necropsia, as alterações mais freqüentes foram palidez emagrecimento (definhamento) da carcaça (Fig. 1) e aumento de volume dos linfonodos (Fig. 2) e pontos brancacentos na superfície renal (Fig. 3). Outras lesões encontradas com menor freqüência foram lesões circulares e hemorrágicas na pele, pulmões não-colabados, redução de tamanho do timo (Fig. 4), edema de tecidos conjuntivos e úlcera gástrica. Lesões microscópicas características de circovirose suína (depleção de linfócitos e infiltração inflamatória linfo-histiocitária) foram encontradas em órgãos linfóides (linfonodos, amígdalas, placas de Peyer e baço), fígado, rins e pulmões. Nos órgãos linfóides, além de necrose e redução das células da linhagem linfóide, observou-se infiltração de histiócitos, as vezes formando células multinucleadas, proliferação de tecido conjuntivo e em muitos casos presença de inclusões intracitoplasmáticas nos histiócitos (Fig. 5) As lesões pulmonares incluíram pneumonia multifocal intersticial com infiltração de células inflamatórias e bronquite severa, com graus variados de disseminação pelo órgão. Nos rins, graus variáveis de nefrite multifocal com vasculite, especialmente na área da córtex, foi o achado mais freqüente. A variação da intensidade e distribuição de lesões em órgãos alvo nos casos de SMD depende, provavelmente, do estágio da doença no suíno afetado.

Oitenta e duas amostras de órgãos suínos foram analisadas por histopatologia e também por nested-PCR para amplificar o DNA de PCV2 presente nesses tecidos. Dentre elas, 51 amostras (62,2%) foram positivas em ambos testes, 17 (20,7%) foram positivas apenas na histopatologia, 06 (7,3%) foram positivas apenas na nested-PCR e 08 (9,8%) foram negativas em ambos os testes (Fig. 6).

Embora o DNA de PCV2 não foi amplificado do material de muitos dos suínos refugos, os testes de histopatologia e PCR juntos foram os que deram resultados mais consistentes. O fato de algumas amostras serem positivas na histopatologia e negativas na nested-PCR pode ser explicada pela ausência de DNA viral nessas amostras, devido ao estágio evolutivo da doença. Amostras positivas no teste de PCR, porém negativas na histopatologia indicam a presença do DNA viral na amostras sem a ocorrência de lesões ou doença. Suínos refugos não são necessariamente suínos com SMD, existem várias outras causas infecciosas ou não que provocam refugagem de leitões na creche e crescimento.

Quarenta e cinco amostras de órgãos suínos previamente diagnosticadas clinicamente e por histopatologia como SMD por clientes externos, foram submetidas à nested-PCR para detecção do PCV2. Dentre elas, 23 (51%) foram positivas e 22 (49%) foram negativas para PCV2 (Fig. 7) sugerindo também que o teste de PCR sozinho deve ser utilizado com cuidado para diagnóstico de circovirose suína. Amostras de órgãos suínos com suspeita de circovirose também foram submetidas por clientes externos, para serem analisadas somente por histopatologia. De 25 amostras testadas, 23 (92%) foram positivas e 02 (8%) foram negativas (Fig. 7). Esses resultados indicam a necessidade de utilizar vários procedimentos para o diagnóstico definitivo da SMD associada ao PCV2.

Conclusões e recomendações

A SMD associada ao PCV2 é freqüente em casos de quadros clínicos de emagrecimento progressivo de leitões nas fases de creche e início do crescimento em rebanhos suínos no Brasil. Para o diagnóstico definitivo da SMD, é necessário combinar o quadro clínico, com as lesões macroscópicas e microscópicas e detectar o agente (PCV2) nos órgãos afetados. Por esta razão recomenda-se que diante de um quadro clínico suspeito da SMD, dois leitões afetados sejam sacrificados para colheita de amostras ou enviados a um laboratório de diagnóstico que esteja habilitado em fazer os testes necessários. No caso de envio de amostras de órgãos ao laboratório deve-se colher fragmentos de linfonodos (inguinais e mesentéricos), íleo, pulmão, rim e fígado. Uma amostra de cada órgão citado deve ser colocada em formalina 10% tamponada e outra parte refrigerada ou congelada, para em seguida serem enviadas ao laboratório.



Figura 1 – Lote de leitões em fase inicial de crescimento com a Síndrome Multissistêmica do Definhamento: sinais de apatia e emagrecimento.



Figura 2 – Suíno com Síndrome Multissistêmica do Definhamento: hipertrofia dos linfonodos inguinais.



Figura 3 – Suíno com a Síndrome Dermatite-Nefropatia: superfície irregular e difusas manchas brancacentas na superfície.

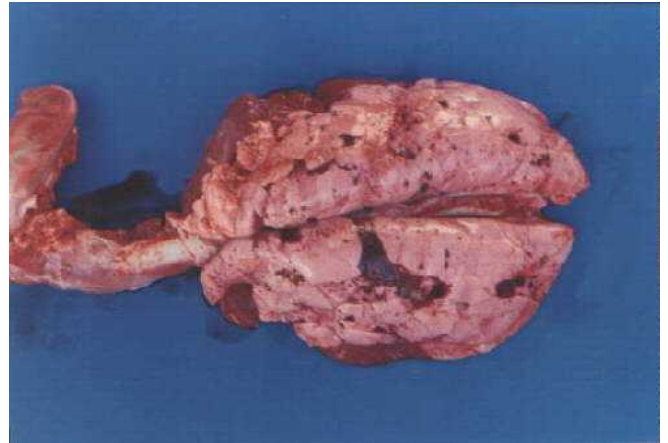


Figura 4 – Suíno com Síndrome Multissistêmica do Definhamento; áreas multifocais de pneumonia.

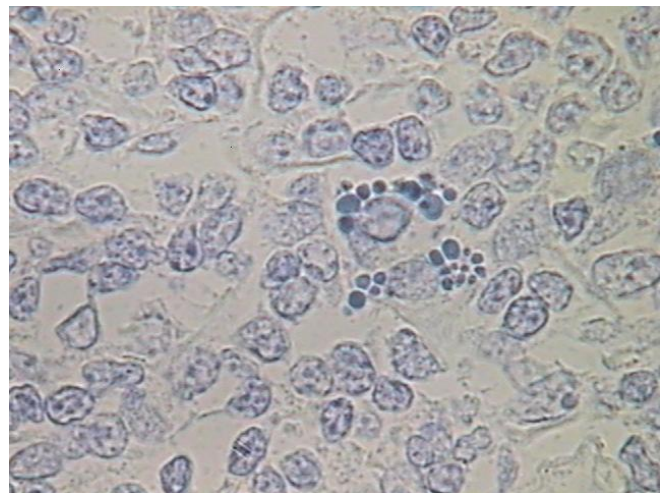


Figura 5 – Suíno com Síndrome Multissistêmica do Definhamento: histiócito com múltiplas inclusões basofílicas intracitoplasmáticas em um linfonodo.

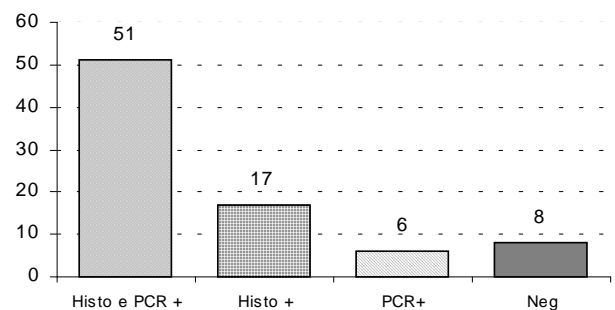


Figura 6 – Amostras testadas por Histopatologia e nested-PCR. Número de amostras positivas nos testes de Histopatologia (Histo+), nested-PCR (PCR+), em ambos os testes (Histo e PCR+) e amostras negativas nos dois testes (Neg.).

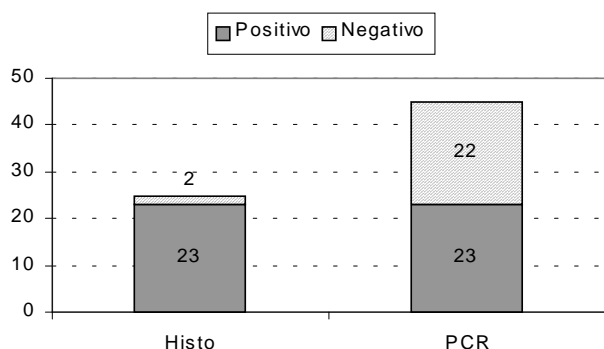


Figura 7 – Amostras testadas somente por Histopatologia ou nested-PCR. Suíno com Síndrome Multissistêmica do Definhamento: histiócito com múltiplas inclusões basofílicas intracitoplasmáticas em um linfonodo.

Referências Bibliográficas

ELLIS, J. A. AND ALLAN, G. The natural history of porcine circoviruses. PMWS Symposium. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 16., 2000, Melbourne. **Proceedings**. Melbourne: IPVS, 2000. P.3. PMWS Symposium.

HAMEL, A. L., LIN, L. L., SACHVIE, C., GRUDESKI, E., NAYAR, G. P. S. PCR detection and characterization of type-2 porcine circovirus. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v.64, p.44-52, 2000.

KIM, J.; HAN DU; CHOI, C.; CHAE, C. Differentiation of porcine circovirus (PCV)-1 and PCV2 in boar semen using a multiplex nested polymerase chain reaction. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 98, n. 1, p. 25-31, 2001.

LAROCHELLE, R.; MORIN, M.; ANTAYA, M. MAGAR, R. Identification and incidence of porcine circovirus in routine field cases in Quebec as determined by PCR. **Veterinary Record**, v.145, p.140-142, 1999.

ROSELL, C., SEGALES, J., PLANA-DURAN, J., BALASCH, M., RODRIGUEZ-ARRIOJA, G. M., KENNEDY, S., ALLAN, G. M., MCNEILLY, F., LATIMER, K. S., DOMINGO, M. Pathological, immunohistochemical, and in situ hybridization studies of natural cases of post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. **Journal of Comparative Pathology**, v.120, p.59-68, 1999.

ZANELLA, J. R. C.; MORES, N. Síndrome multissistêmica do definhamento do leitão desmamado (SMDLD) causada por circovírus suíno. In: CONGRESSO MERCOSUR DE PRODUCCIÓN PORCINA, 2000, Buenos Aires. Memoria. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, 2000. p.EIP16.

ZANELLA, J. R. C.; MORES, N.; SCHIOCHET, M. F.; TROMBETTA, C. Diagnóstico molecular e caracterização de circovírus suíno tipo 2 isolados no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINARIOS ESPECIALISTAS EM SUINOS, 10., 2001, Porto Alegre. **Anais**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves. 2001, p. 99-100.

Comunicado Técnico, 339

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Suínos e Aves
Endereço: Caixa Postal 21, 89700-000, Concórdia, SC
Fone: (49) 442-8555
Fax: (49) 442-8559
Email: sac@cnpa.embrapa.br

1ª edição
 1ª impressão (2003) tiragem: 100

Comitê de Publicações

Presidente: Paulo Roberto Souza da Silveira
Membros: Paulo Antônio Rabenschlag de Brum, Janice Reis Ciacci Zanella, Gustavo J.M.M. de Lima, Julio Cesar P. Palhares, Cícero Juliano Monticelli.

Revisores Técnicos

Cícero J. Monticelli, Jalusa Deon Kich.

Expediente

Supervisão editorial: Tânia M.B. Celant.
Editoração eletrônica: Simone Colombo.
Normalização bibliográfica: Irene Z.P. Camera.
Foto capa: Nelson Morés.