

Capítulo 3

Estudos da patogenicidade
do circovírus suíno tipo 2
(PCV2) em suínos e do papel
do macho suíno na
disseminação viral dentro do
plantel

Janice Reis Ciacci Zanella
Nelson Morés
Paulo Augusto Esteves

Introdução

A circovirose suína é um conjunto de síndromes causada pela infecção do circovírus suíno tipo 2 (PCV2). A doença tem grande importância econômica e é atualmente a mais pesquisada da suinocultura mundial. A principal manifestação da circovirose suína a Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno (SMDS). Contudo, o PCV2 tem sido relacionado também com outras síndromes e doenças, como a Síndrome da Dermatite e Nefropatia Suína (SDNS), doença do complexo respiratório suíno, falhas reprodutivas com presença de natimortos, mumificação fetal e abortos, enterite granulomatosa, epidermite exsudativa, linfadenite necrotizante e tremor congênito.

Objetivos

O objetivo deste trabalho foi estudar a importância da infecção do PCV2 no sistema reprodutor masculino, seu tropismo, a disseminação viral via sêmen e capacidade infectiva do PCV2 no sêmen para fêmeas suínas e suas leitegadas.

Resultados e Discussão

Para estudar o tropismo do PCV2 nos órgãos dos caçaços, propôs-se a implantação de metodologias de diagnóstico específicas, como a imunohistoquímica (IHQ) e hibridização in situ (HIS). Estas técnicas foram desenvolvidas e implantadas a partir de material positivo por histopatologia e nested-PCR (reação da polimerase em cadeia – interna) para circovirose suína, provenientes de diagnósticos de casos de campo e inoculações experimentais realizadas anteriormente. Testou-se por nested-PCR 503 amostras de sêmen de 11 centrais de colheita de sêmen e 1 granja (monta natural) e obteve-se 53 amostras positivas. Posteriormente, machos de centrais de inseminação positivos para PCV2 no sêmen (por nested-PCR ou PCR em tempo real) foram

necropsiados ou enviados ao abate e sêmen e órgãos foram coletados. Fragmentos de órgãos do sistema reprodutivo de machos suínos positivos para DNA de PCV2 por nested-PCR em órgãos e sêmen foram processados para análise histológica, IHQ ou HIS. Análises de IHQ ou HIS puderam detectar células positivas nos rins (células do epitélio renal tubular), linfonodo mesentérico, inguinal, e tonsilas (histiócitos), testículos (macrófagos intersticiais) e órgãos reprodutivos acessórios como próstata (células intersticiais), glândula bulbo-uretral (macrófagos) e epidídimo (células epiteliais). Ainda não está claro qual o mecanismo que o PCV2 utiliza para se manter persistente nas células dos órgãos reprodutivos dos machos suínos. A técnica de TUNEL foi empregada para descartar a hipótese de apoptose (morte celular programada) nas células do sistema imune ou outras células, que poderiam ser causadas pelo PCV2, objetivando assim se manter e replicar nesses tecidos. Devido ao fraco sinal de positividade, tanto por IHQ, HIS ou PCR tempo real, a quantidade de PCV2 nessas células é mínima, indicando uma baixa carga viral nesses tecidos. Avaliações de morfologia e motilidade espermática do sêmen colhido aos 21 e 1 dia anteriores à necropsia destes machos positivos para PCV2, também foram realizadas. Não foi encontrada uma relação entre a presença do PCV2 e as alterações de morfologia espermáticas.

Para estudar a epidemiologia da doença, suínos machos, filhos de mães negativas para PCV2 com pai positivo e de mãe e pai negativos para PCV2 foram acompanhados clinicamente, e ao atingirem a maturidade sexual foram realizadas coletas de sêmen e de sangue para avaliação por nested-PCR. Após isto, os animais foram eutanasiados e procedida a coleta de diversos órgãos para análise por histopatologia, nested-PCR, ISH, IHQ e TUNEL, para análises de morfologia, patogenia, tropismo viral e duração da persistência viral. Ao avaliar as amostras por nested-PCR, vários tecidos foram positivos em 10 dos 12 suínos, sendo mais prevalentes linfonodos, medula óssea e baço. Ao avaliar as mesmas amostras por IHQ, várias foram positivas em 8 dos 12 suínos, sendo as mais prevalentes linfonodos, tonsila e glândula bulbouretral. No geral,

os resultados obtidos nas diferentes amostras nos 3 testes (ICQ, nested-PCR e IHQ) corroboraram entre si. Assim, estes resultados evidenciam que a transmissão do PCV2 pelo sêmen para as fêmeas e para a leitegada pode ocorrer e também representam um potencial risco de infecção para rebanhos negativos.

Tecnologias geradas

Durante a execução desse projeto e para a obtenção de resultados várias metodologias foram geradas, dentre elas a padronização da imunistoquímica (IHQ) uma metodologia de hibridização in situ (HIS) para detecção de DNA intracelular e uma metodologia de detecção de apoptose através de fragmentação do DNA intra-celular (TUNEL). Também foi gerada uma prática/processo agropecuário cujo título é: Protocolo de teste para circovírus suíno tipo 2 (PCV2) e qualidade morfológica do sêmen de cachacos de centrais de inseminação artificial (CIA).

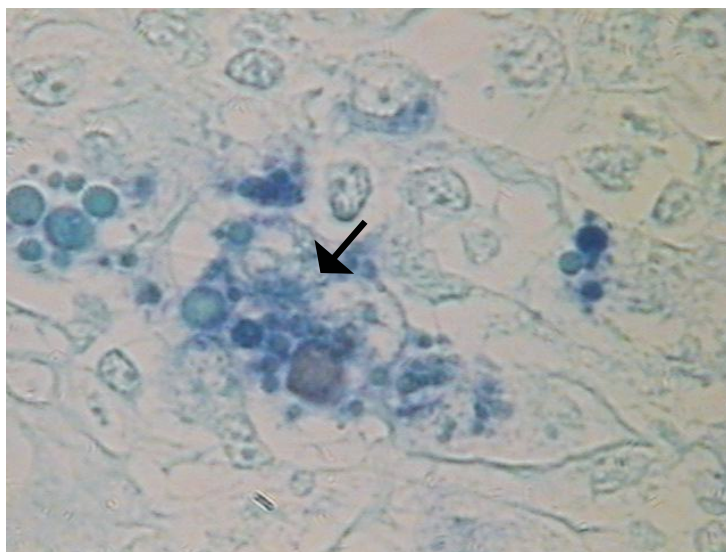


Fig. 1. Detecção de DNA de PCV2 por ISH em linfócitos de suínos com circovirose suína. No detalhe corpúsculos de inclusão viral.

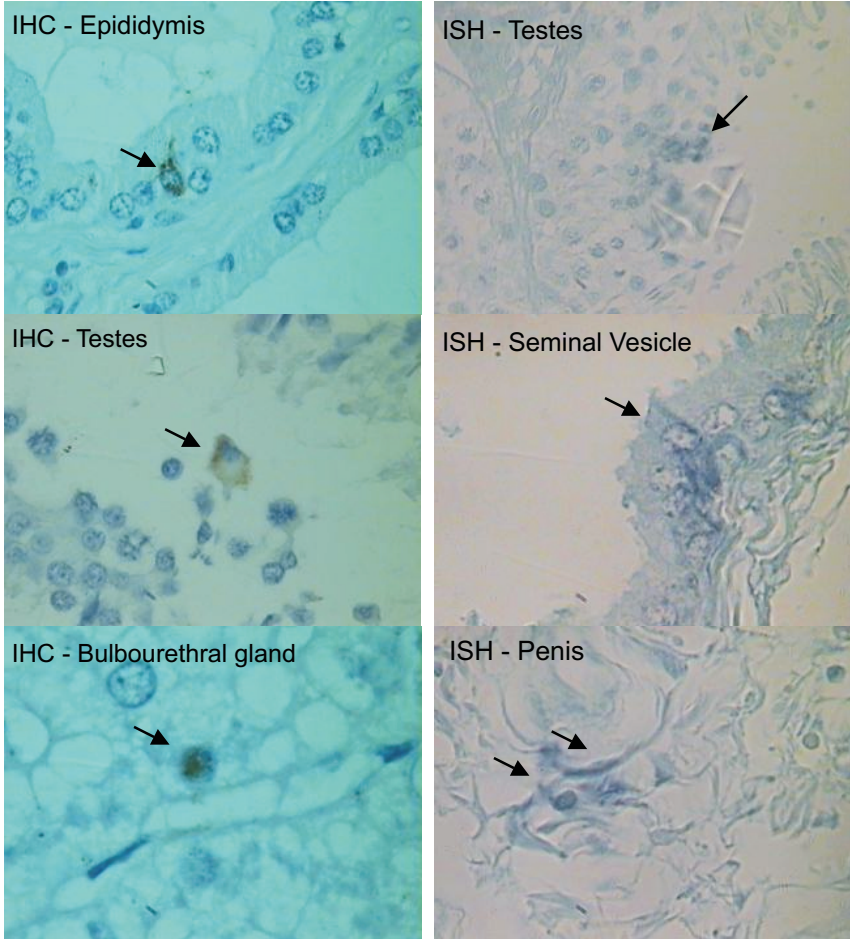


Fig. 2. Detecção de antígenos (imunohistoquímica - IHC) e DNA (hibridização in situ -ISH) de PCV2 em células de cachos naturalmente infectados por PCV2. O teste de IHC detectou células positivas nos testículos (macrófagos intersticiais) e em glândulas acessórias do aparelho reprodutor como próstata (células intersticiais), glândula bulbourethral (macrófagos) e epididimo (células epiteliais). Resultados semelhantes foram encontrados por ISH.

Considerações finais

Esse projeto gerou vários indicadores, como seis artigos em revista indexada, 15 trabalhos completos em anais de congresso; um capítulo de livro e quatro publicações técnicas, totalizando 26 publicações. Gerou também indicadores de divulgação do resultado de alcance individual (13 bolsas e/ou estágios), oito de alcance grupal (cursos e seminários) e 27 de alcance massivo como sete Congressos internacionais, cinco mesas redondas em congressos, três textos jornais/revistas e 13 palestras.

Referências

GAVA D.; ZANELLA E. L.; MORÉS N.; CIACCI-ZANELLA J. R. Transmission of Porcine Circovirus 2 (PCV2) by semen and viral distribution in the different piglet tissues. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.28, p.70-76, 2008.

ZANELLA, J. R. C. Porcine circovirus type 2 infection: research, economical impact, clinical and epidemiological presentation in Brazilian swine herds. In: ALMEIDA, M. R. de; MORAES, M. P.; PATARROYO, S. J. H.; VIDIGAL, P. M. P.; BORÉN, A. *Biotecnologia e saúde animal*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p.252-269.