

PESQUISA DE CIRCOVIRUS SUÍNO TIPO 2 E PARVOVIRUS SUÍNO EM SÊMEN SUÍNO ORIUNDO DE GRANJA GRSC

Vanessa Haach¹, Danielle Gava², Mariana Groke Marques², Janice Reis Ciacci Zanella² e Rejane Schaefer²

¹Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC), Campus de Joaçaba, Joaçaba, SC, bolsista PIBIC/CNPq na Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, vanessahaach@hotmail.com.

²Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC.

Palavras-chave: suínos, inseminação artificial, transmissão, vírus.

INTRODUÇÃO

O sêmen pode ser fonte de infecção de agentes virais que causam problemas reprodutivos nas fêmeas, e consequentemente, redução no desempenho reprodutivo do rebanho e aumento dos custos de produção (1, 6, 7). Dentre os vírus transmitidos pelo sêmen que são de notificação obrigatória para a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), destacam-se o vírus da síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos, peste suína clássica, peste suína africana, doença de Aujeszky, febre aftosa, dentre outros (7). Outros vírus que não fazem parte na lista da OIE, mas são igualmente importantes na produção de suínos e cuja infecção via sêmen já foi comprovada, são o Circovírus Suíno Tipo 2 (PCV2) e Parvovírus Suíno (PPV) (2, 5, 6, 7, 8). O PCV2 e o PPV são vírus ubíquos nas populações de suínos em todo o mundo (2, 12, 14). O PCV2 é um vírus pequeno, não envelopado, com genoma circular de DNA de fita simples, que faz parte da família *Circoviridae*. O PCV2 está relacionado a diferentes patologias, sendo a síndrome multissistêmica do definhamento dos suínos a mais frequente (12). Outras doenças com sintomatologia entérica, respiratória ou reprodutiva, bem como a síndrome da dermatite e nefropatia tem sido associadas à infecção pelo PCV2 (10, 11, 12). O PPV é um vírus pequeno, não envelopado, com genoma linear de DNA de fita simples, e faz parte da família *Parvoviridae* (2, 14). A infecção pelo PPV causa falhas reprodutivas em fêmeas suínas, principalmente em nulíparas. Geralmente, a infecção é subclínica em suínos adultos, no entanto, o PPV possui capacidade de infecção transplacentária, acarretando a morte de embriões e fetos (11, 14). Os machos podem atuar como vetores na disseminação do PCV2 e do PPV em fêmeas suscetíveis, por meio da inseminação artificial com sêmen infectado com estes vírus (1, 3). Desta forma, metodologias de diagnóstico destes vírus no sêmen são de grande importância a fim de que se possa adotar medidas de manejo, controle e prevenção, diminuindo o impacto destas enfermidades nos plantéis. Este estudo teve como objetivo analisar amostras de sêmen de machos suínos oriundos de uma central de inseminação quanto à infecção pelo PCV2 e PPV.

MATERIAL E MÉTODOS

Trinta machos suínos oriundos de uma central de inseminação certificada (GRSC) foram avaliados. A central é composta de 138 machos e comercializa sêmen para 251 granjas. Os machos são vacinados para Erisipela, PPV, Leptospirose, PCV2 e *Mycoplasma hyopneumoniae*. As amostras de sêmen foram coletadas três vezes de cada animal, com intervalo de 45 dias entre cada coleta. Foi realizada extração de DNA a partir de amostra de sêmen total da dose inseminante com o Kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen). Posteriormente, as amostras de sêmen foram testadas pelas técnicas de nested-PCR para detecção do PCV2, conforme Kim e Chae (2001) (4), e por nested-PCR para detecção do PPV, segundo Soucie e colaboradores (2000) (13). Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,0% e visualizados sob luz ultravioleta. As amostras positivas para PCV2 foram testadas por PCR em tempo real quantitativa (qPCR), descrita por Opriessnig e colaboradores (2003) (9).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras de sêmen foram negativas para PPV. Duas amostras da primeira coleta foram positivas para PCV2 no ensaio de nested-PCR (macho mossá 37632 e 56702). Na qPCR somente uma amostra foi positiva para PCV2 (macho mossá 37632), apresentando um Ct de 34,98 e 15,06 cópias/uL. Como a técnica de nested-PCR é mais sensível que a PCR em tempo real na detecção do PCV2, já era esperada uma baixa carga viral, conforme verificado pelo resultado obtido. Kim e colaboradores (2003) analisaram 98 amostras de sêmen, e encontraram 11 amostras positivas para PCV2, 12 amostras positivas para PPV e 15 amostras positivas para ambos os vírus (5). Csárgola e colaboradores (2012) não detectaram PCV2 e PPV em amostras de sêmen, porém detectaram DNA de PPV em amostras de soro e DNA de PCV2 em soro, órgãos, fetos e suabes fecais (2). McIntosh e colaboradores (2006) analisaram 903 amostras de sêmen de 43 machos, sendo que 30 amostras de sêmen de 13 machos foram positivas para PCV2 (8). Apesar do PCV2 e do PPV não causarem alterações no trato genital dos machos suínos, o PCV2 pode impactar na qualidade do sêmen e ambos os vírus podem ser transmitidos às fêmeas após a inseminação artificial, levando ao retorno ao estro e aumento de fetos natimortos e/ou mumificados, além de poder haver transmissão viral para todo o rebanho (1, 3, 7). A contaminação viral do sêmen suíno apresenta grande risco para granjas, uma vez que o uso de inseminação artificial permite a rápida disseminação de vírus na população de fêmeas, podendo comprometer todo o rebanho. Desta forma, a realização de monitoria constante das doses inseminantes nas centrais de inseminação é extremamente

importante, principalmente pelo fato da excreção do PCV2 através do sêmen ser intermitente (5, 6). A escolha de pesquisa de PPV e PCV2 em sêmen deu-se pela importância produtiva e reprodutiva destes agentes nos plantéis brasileiros. Cabe ressaltar que o Brasil é livre do vírus da síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos e peste suína africana, e a granja GRSC avaliada está localizada em estado livre de peste suína clássica, doença de Aujeszky e febre aftosa, todos agentes virais que poderiam ser transmitidos pelo sêmen e são de notificação frente à OIE.

CONCLUSÕES

Não foi detectado DNA do PPV nas amostras de sêmen analisadas. DNA do PCV2 foi detectado em duas amostras, porém com baixa carga viral. Devido ao uso da inseminação artificial ser comum em granjas de suínos, a monitoria de agentes virais que podem ser transmitidos pelo sêmen, como o PCV2 e o PPV, é altamente recomendado. A infecção pelo PCV2 e o PPV pode resultar em diminuição tanto dos índices reprodutivos quanto dos produtivos. Assim, deve-se ter controle sanitário dos machos doadores de sêmen, tanto na pré-entrada dos animais, como também é importante realizar testes laboratoriais frequentes nos animais, e testes das doses de sêmen frente a estes agentes antes do envio às granjas. Medidas de controle das infecções virais veiculadas pelo sêmen incluem detecção viral no sêmen, eliminação dos plantéis de machos positivos para os agentes, aplicação de medidas de biossegurança e prevenção via vacinação.

REFERÊNCIAS

1. BIANCHI, I. et al. Importância do uso da inseminação artificial na prevenção da veiculação de patógenos através do sêmen suíno. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n.1/2, p.72-77, 2006.
2. CSÁGOLA, A. et al. Detection, prevalence and analysis of emerging Porcine Parvovirus infections. **Archives of Virology**, v.157, n.6, p.1003-1010, 2012.
3. GAVA, D. et al. Transmissão de doenças através da inseminação artificial em suínos. **Suinocultura em Foco**, v.21, p.6-7, 2007.
4. KIM, J.; CHAE, C. Optimized protocols for the detection of Porcine Circovirus 2 DNA from formalin-fixed paraffin-embedded tissues using nested polymerase chain reaction and comparison of nested PCR with in situ hybridization. **Journal of Virological Methods**, v.92, n.2, p.105-111, 2001.
5. KIM, J. et al. Simultaneous detection and differentiation between Porcine Circovirus and Porcine Parvovirus in boar semen by multiplex seminested polymerase chain reaction. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.65, n.6, p.741-744, 2003.
6. MADSON, D.M. et al. Infectivity of Porcine Circovirus Type 2 DNA in semen from experimentally-infected boars. **Veterinary Research**, v.40, n.10, 2009.
7. MAES, D. et al. Porcine semen as a vector for transmission of viral pathogens. **Theriogenology**, v.85, n.1, p.27-38, 2016.
8. MCINTOSH, K.A. et al. Nested polymerase chain reaction detection and duration of Porcine Circovirus Type 2 in semen with sperm morphological analysis from naturally infected boars. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.18, n.4, p.380-384, 2006.
9. OPRIESSNIG, T. et al. Effect of vaccination with selective bacterins on conventional pigs infected with Type 2 Porcine Circovirus. **Veterinary Pathology**, v.40, n.5, p.521-529, 2003.
10. 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. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.19, n.6, p.591-615, 2007.
11. OPRIESSNIG, T. et al. Identification of recently described Porcine Parvoviruses in archived North American samples from 1996 and association with Porcine Circovirus associated disease. **Veterinary Microbiology**, v.173, n.1-2, p.9-16, 2014.
12. SEGALÉS, J. Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. **Virus Research**, v.164, n.1-2, p.10-19, 2012.
13. SOUCIE, J.M. et al. Investigation of Porcine Parvovirus among persons with hemophilia receiving Hyate:C porcine factor VIII concentrate. **Transfusion**, v.40, n.6, p.708-711, 2000.
14. TRUYEN, U.; STRECK, A.F. Porcine Parvovirus. In: ZIMMERMANN, J.J. et al. (eds). **Diseases of Swine**. 10. ed. Wiley-Blackwell, 2012, p.447-455.