



Detecção de DNA de Circovírus Suíno Tipo 2 (PCV2) em Órgãos de Macho Suíno

Janice Reis Ciacci-Zanella¹
Simone Savoldi Bassi²
Kelen Ascoli³
Neide Simon⁴
Almiro Dahmer⁵
Eraldo Lourenso Zanella⁶

1. Introdução

A circovirose suína é causada pelo circovírus suíno tipo 2 ou PCV2, um vírus patogênico que está disseminado mundialmente em rebanhos suínos. A circovirose suína foi diagnosticada pela primeira vez no Brasil em 2000 no Laboratório de Sanidade da Embrapa Suínos e Aves em Concórdia, SC. Desde então, vários casos novos de suspeita clínica com confirmação laboratorial foram identificados em rebanhos suínos brasileiros. O circovírus suíno pode ser transmitido de suínos infectados para não-infectados de forma horizontal e vertical. A transmissão horizontal por via oronasal é a mais freqüente, e a transmissão vertical já foi demonstrada experimentalmente. A associação do circovírus suíno com abortos e natimortos indica que a transmissão transplacentária também é um fator importante. O material genético (DNA) do PCV2 foi detectado em sêmen de machos suínos infectados experimentalmente através de nested-PCR (reação em cadeia da polimerase – interna). Esses achados demonstram que o macho suíno infectado representa um fator

importante na disseminação do circovírus suíno dentro do plantel, principalmente através de sêmen contaminado. Um estudo recente foi realizado abrangendo quatro centrais de inseminação brasileiras visando implantar um método de diagnóstico viral para PCV2 em sêmen suíno. Neste estudo, detectou-se DNA de circovírus suíno em sêmen e soro suíno por nested-PCR. O objetivo deste trabalho é de investigar quais órgãos abrigam o PCV2 em macho positivo para PCV2 no sêmen e soro suínos para análises futuras de patogenia viral. Estudos adicionais com este macho suíno para elucidar a patogenia do PCV2 no sistema reprodutivo de cachaços e possibilidade de transmissão transplacentária do vírus e infecção de fetos suínos estão em andamento.

Estudo realizado

O macho suíno positivo foi necropsiado e foram coletadas amostras de órgãos como testículo, epidídimo, glândulas acessórias do aparelho reprodutivo, linfonodos e outros para detecção de PCV2.

¹ Méd. Vet., Ph.D. Embrapa Suínos e Aves, 89700-000, Concórdia/SC. janice@cnpsa.embrapa.br

² Bolsista convênio Embrapa Suínos e Aves e UnC (Universidade do Contestado, Concórdia / SC).

³ Bolsista convênio Embrapa Suínos e Aves e UnC (Universidade do Contestado, Concórdia / SC).

⁴ Assist. Opera. I. Embrapa Suínos e Aves.

⁵ Assist. Opera. II. Embrapa Suínos e Aves.

⁶ Fac. de Agrono. e Med. Vet., Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS.

O diagnóstico virológico foi realizado através da técnica de nested-PCR utilizando sequência de “primers” aneladores específicos para amplificar a sequência da ORF2 (fase aberta de leitura 2) do PCV2. Avaliações de morfologia e motilidade espermática do sêmen colhido aos 21 e 1 dia anteriores à necropsia, também foram realizadas.

Resultados e Discussão

O macho positivo para PCV2 foi examinado clinicamente e não apresentou nenhuma sintomatologia característica de circovirose suína (Figura 1). O histórico do animal indicou que algumas semanas anteriormente ao exame positivo por nested-PCR no sêmen e soro, o mesmo apresentou vômitos e inapetência. As avaliações do sêmen colhidos nos dias anteriores à necropsia não indicaram alterações em termos de patologia espermática, concentração ou motilidade. Durante a necropsia e no exame macroscópico dos órgãos, foi observado a presença de pilo-concremento no estômago e cistite mas nenhuma outra alteração patológica significativa foi observada.

A Figura 2 é uma foto dos órgãos do aparelho reprodutor do macho após a necropsia. O DNA de PCV2 nas amostras dos órgãos do suíno foi detectado através da técnica de nested-PCR que amplificou um produto de 225 pb (pares de base). A Figura 3 é uma foto de gel de agarose com produtos amplificados de DNA extraído de órgãos do suíno necropsiado. No teste de nested-PCR dos órgãos pôde-se amplificar DNA de PCV2 dos órgãos linfoides como linfonodos mesentéricos, linfonodos inguinais e amígdalas. Amostras de tecidos do aparelho reprodutivo como vesícula seminal, próstata, pênis, epídimo, testículo, glândulas bulbo-uretrais e canal deferente também resultaram positivos (Figura 3). Outros órgãos testados como coração, pulmão, baço, traquéia, fígado, rins, foram negativos. Experimentos de transmissão vertical, ainda em andamento, informarão a importância da contaminação com PCV2 do sêmen do macho suíno utilizado para inseminação

artificial de fêmeas negativas na epidemiologia da circovirose suína. Atualmente 12 machos filhos deste suíno com fêmeas negativas, mantidos em isolamento desde a desmama estão sendo investigados. Este trabalho indica que o DNA de PCV2 está presente em órgãos de macho suíno positivo mas ainda não se sabe quais células deste sistema abrigam o vírus ou se a infecção viral é persistente. Estudos da localização do vírus por hibridização *in situ* irão auxiliar na elucidação da patogenia do agente ao identificar o DNA viral em células nos cortes histológicos de órgãos destes suínos, relacionando as lesões encontradas com o nível de atividade viral.

Conclusões

Neste trabalho o DNA de PCV2 foi amplificado por nested-PCR de amostras de órgãos de macho suíno positivo no sêmen de uma central de inseminação. Os resultados indicam que o PCV2 está localizado em órgãos linfoides e do aparelho reprodutor do macho positivo para PCV2.

Implicações

1) Neste trabalho o DNA de PCV2 foi amplificado, porém ainda não se sabe se o PCV2 presente nestas amostras de sêmen é infeccioso, capaz de transmitir e infectar a porca e leitões. Porém, se o PCV2 for infeccioso e estiver persistindo nos órgãos do aparelho reprodutor do cachão é um grande risco para difusibilidade do agente da circovirose suína através de sêmen distribuído pelas centrais de inseminação.

2) A nested-PCR é uma ferramenta para testar o sêmen de cachões de centrais e auxiliar no controle da circovirose suína. “Pools” de amostras de sêmen de três machos poderão ser enviadas ao laboratório para exame a cada 6 meses.



Figura 1: Macho suíno positivo para PCV2 no sêmen



Figura 2: Órgãos de suíno positivo

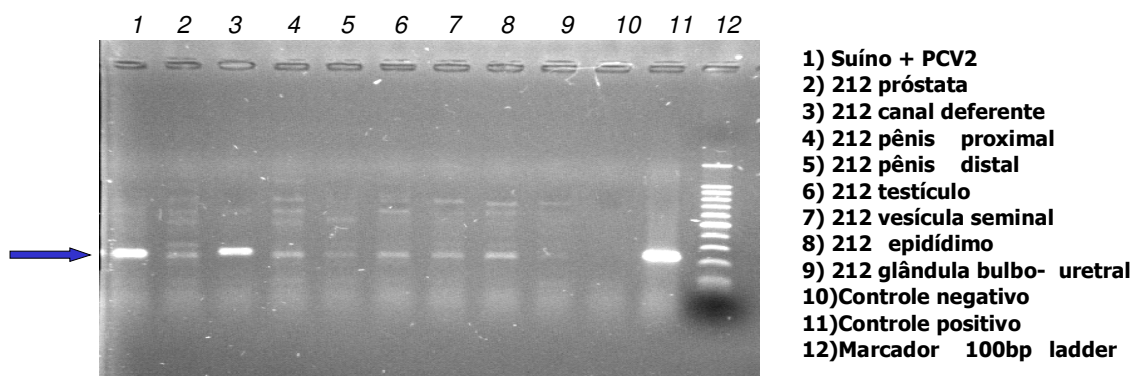


Figura 3: Amplificação de DNA de PCV2 de órgãos de suíno positivo para PCV2 no sêmen

Referências Bibliográficas

CIACCI-ZANELLA, J.,R.; MORES, N. Diagnostic of post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in swine in Brazil caused by porcine circovirus type 2 (PCV2). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, p. 522-527, 2003.

CIACCI-ZANELLA, J. R.; BASSI, S.; ASCOLI, K.; DAHMER, A.; ZANELLA, E. L. Detecção de circovírus suíno tipo 2 (PCV2) em sêmen de suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11., 2003, Goiânia. **Anais**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2003, v.2, p.97-98.

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**, v. 98, n. 1, p. 25-31, 2001.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning, a laboratory manual**. 2.ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.

ZANELLA, J. R. C.; MORES, N. Síndrome multisistêmica do desmame do leitão (SMDLD) causada por circovírus suíno. In: CONGRESO MERCOSUR DE PRODUCCIÓN PORCINA, 2000. Buenos Aires. **Memoria**. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, 2000. P.EIP16.

Comunicado Técnico, 387

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Suínos e Aves
Endereço: Br 153, Km 110,
Vila Tamanduá, Caixa postal 21,
89700-000, Concórdia, SC
Fone: 49 4428555
Fax: 49 4428559
E-mail: sac@cnpsa.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2004): tiragem: 100

Comitê de Publicações

Presidente: Jerônimo Antônio Fávero
Membros: Claudio Bellaver, Cícero Juliano Monticelli, Gerson Neudi Scheuermann, Airon Kunz, Valéria Maria Nascimento Abreu.
Suplente: Arlei Coldebella

Revisores Técnicos

Cícero J. Monticelli, Paulo R.S. da Silveira.

Expediente

Supervisão editorial: Tânia Maria Biavatti Celant.
Editoração eletrônica: Simone Colombo.
Normalização bibliográfica: Irene Z. P. Camera.
Foto Capa: Janice Reis Ciacci-Zanella