

# 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

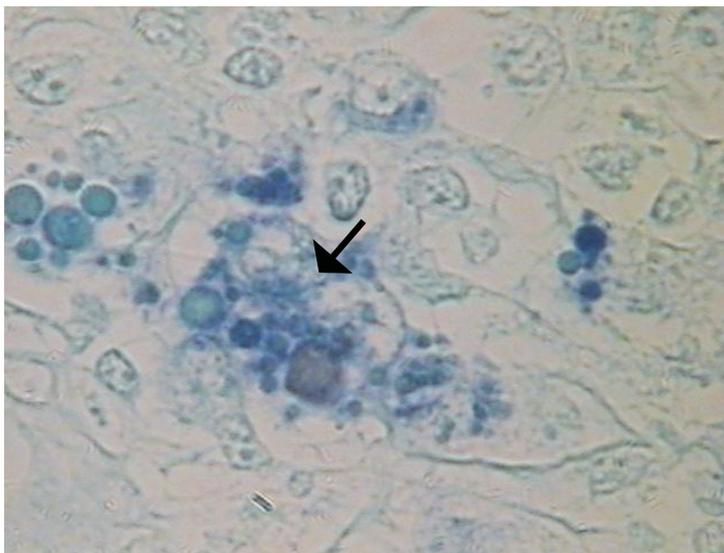
necropsiados ou enviados ao abate e sêmen e órgãos foram coletados. Fragmentos de órgãos do sistema reprodutivo de machos suínos positivos para DNA de PCV2 por nested-PCR em órgãos e sêmen foram processados para análise histológica, IHQ ou HIS. Análises de IHQ ou HIS puderam detectar células positivas 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,

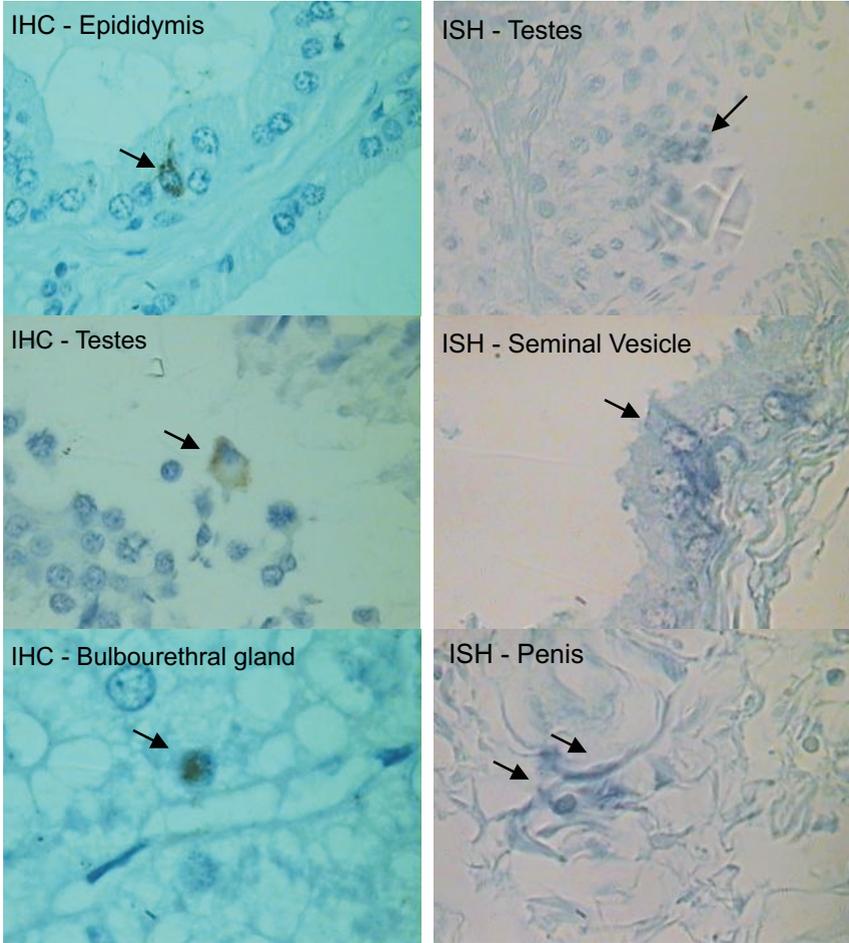
os resultados obtidos nas diferentes amostras nos 3 testes (ICQ, nested-PCR e IHQ) corroboraram entre si. Assim, estes resultados evidenciam que a transmissão do PCV2 pelo sêmen para as fêmeas e para a leitegada pode ocorrer e também representam um potencial risco de infecção para rebanhos negativos.

## 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 intersiticiais) 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 em 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.