

Identificação no Brasil de Circovirus Suíno Tipo 2 (PCV2) em Tecidos Arquivados em Parafina desde 1988

Janice Reis Ciacci-Zanella¹
Kelen Ascoli²
Neide Simon³
Nelson Morés⁴
Salette Rodrigues de Oliveira⁵
Beatris Kramer⁶

Introdução

A circovirose suína é uma doença viral de grande importância econômica, mundialmente distribuída e causada por um circovírus suíno, PCV2. A circovirose suína pode se manifestar de diversas formas, porém as mais frequentes são a síndrome multissistêmica do definhamento dos suínos (SMDS) e a síndrome da dermatite e nefropatia suína (SDNS). A doença foi identificada no Brasil inicialmente no ano 2000 na Embrapa Suínos e Aves e desde então tem causado perdas e mortalidade em suínos na creche e crescimento-terminação. Existem relatos recentes de estudos retrospectivos sobre a identificação da doença desde 1986 na Espanha, Inglaterra e Suíça, desde 1989 no Japão e desde 1993 na Tailândia. Desta forma, considera-se que a doença também possa ter ocorrido no Brasil antes da sua primeira identificação em 2000. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo retrospectivo em órgãos de suínos estocados em blocos de parafina submetidos a diagnóstico histopatológico no período entre 1985 a 1998, para identificar a presença do PCV2.

Estudo realizado

Blocos de parafina contendo fragmentos de órgãos de suínos entre os anos 1985 and 1998 foram selecionados da coleção de arquivos do Laboratório de Sanidade da Embrapa Suínos e Aves, Setor de Patologia. Um total de 25 casos foram escolhidos, com base nas lesões patológicas de linfadenopatia, pneumonia intersticial, hepatite e / ou nefrite intersticial. A detecção de PCV2 nos órgãos dos suínos foi realizada através da técnica de nested-PCR (reação da polimerase em cadeia - interna). Cortes histológicos foram processados e o DNA foi extraído. Os "primers" aneladores utilizados para a nested-PCR são específicos para a ORF2 (fase aberta de leitura 2) do PCV2, que é bastante conservada entre os vários isolados do vírus. Como controle positivo foi utilizada a amostra de PCV2 isolada de suínos com sintomatologia e lesões de circovirose suína. Água ultrapura foi utilizada como controle negativo das reações. Os materiais positivos na técnica de nested-PCR foram submetidos ao exame histopatológico.

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 Assist. Opera. I. Embrapa Suínos e Aves.

⁴ Méd. Vet., M.Sc. Embrapa Suínos e Aves.

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

⁶ Assist. Opera. I. Embrapa Suínos e Aves.

Os cortes histológicos foram processados e corados com hematoxilina e eosina como descrito anteriormente.

Resultados e Discussão

No total de 25 amostras testadas, 2 amostras de órgãos foram positivas para amplificação do DNA de PCV2 produto de DNA do PCV2 com 225 pares de base - pb esperados para os "primers" utilizados na reação de nested-PCR (Figuras 1 e 2). A Figura 1 é uma foto de gel de agarose indicando os resultados dos testes de nested-PCR em "pools" de DNA extraído de tecidos de suínos em blocos de parafina. As linhas 3 e 5 são "pool" de DNA extraídos de órgãos suínos dos protocolos dos anos 1988 e 1990, respectivamente, que resultaram positivos. A Figura 2 apresenta os resultados de nested-PCR de PCV2 com produtos amplificados de DNA dos "pools" positivos. A linha 2 é amostra do protocolo 826/88, diagnosticado inicialmente como hepatite (Figura 3), e a linha 5 é a amostra do protocolo 78/90, diagnosticado inicialmente como glomerulonefrite (Figura 4). Esses resultados indicam que o PCV2 já estava presente em plantéis de suínos no Brasil desde 1988.

Para o diagnóstico da circovirose suína é importante a associação dos sintomas clínicos, com os achados de lesões macro e microscópicas e com a identificação do agente, PCV2. Análises histopatológicas das lâminas dos materiais positivos por nested-PCR para PCV2 indicam que o material do protocolo 826/88 apresenta lesões no fígado de infiltração linfoplasmocitária na região portal (Figura 3), células de Kupffer demonstrando hiperatividade e fibrosamento da cápsula de Glisson, com leve infiltração linfoplasmocitária. Análises do material do protocolo 78/90 indicam severa e difusa glomerulonefrite mononuclear: glomérulos hipotróficos com fibrose da cápsula de Bowman e do tufo glomerular; dilatação do espaço de Bowman que contem material amorfo em início de organização por fibrose; os túbulos renais dilatados, contendo material amorfo hialino e epitélio comprimido; alguns túbulos renais com degeneração

granular hialina do citoplasma das células epiteliais; difusa infiltração linfoplasmocitária e de alguns eosinófilos no interstício, tanto na camada medular como na cortical (Figura 4).

Esses resultados demonstram que a circovirose suína está presente no Brasil desde 1988, apesar do PCV2 como agente estar associado à doença e ter sido identificado inicialmente somente em 2000. Porém, ainda não está claro por que a circovirose suína causada pelo PCV2, repentinamente, tornou-se uma doença de grande importância econômica para a suinocultura mundial, desde que se reproduziu a doença em 1997 no Canadá. Suspeita-se que a circovirose suína seja uma consequência das mudanças nas práticas de manejo, na genética do hospedeiro ou emergência de outros agentes que aumentam a gravidade da doença decorrente também de infecções secundárias.

Conclusões

A circovirose suína foi diagnosticada em materiais de arquivo de 1988 através da amplificação de DNA de PCV2 por nested-PCR e identificação de lesões histopatológicas, sugerindo que a infecção já estava presente no Brasil desde aquela época, apesar de ter sido reportada pela primeira vez em 2000.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

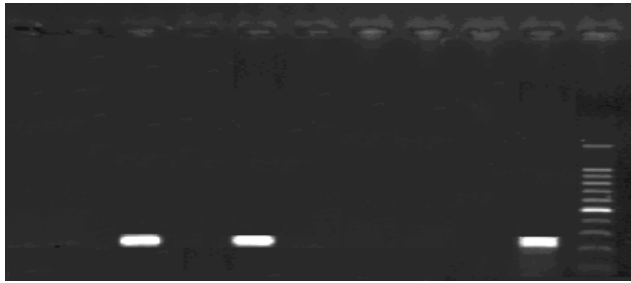


Figura 1: Amplificação de DNA de PCV2 em pool de órgãos

- | | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| 1. 430/86, 805/86 e 1268/85; | 5. 187/90 e 78/90; + | 9. Controle negativo; |
| 2. 72/87, 756/87 e 06/89; | 6. 107/91, 29/91, 116/91 e 60/91; | 10. Controle positivo; |
| 3. 892/88, 826/88 e 463/88; + | 7. 45/92, 114/92 e 229/95; | 11. Marcador 100pb. |
| 4. 106/88, 787/88, 141/88 e 1042/88; | 8. 48/93, 144/93 e 236/98; | |

1 2 3 4 5 6 7 8

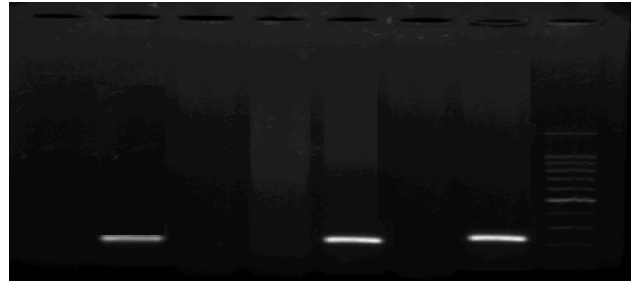


Figura 2: Amplificação individual dos pools positivos

- | | |
|--------------|-----------------------|
| 1. 892/88; | 5. 78/90; + |
| 2. 826/88; + | 6. Controle negativo; |
| 3. 463/88; | 7. Controle positivo; |
| 4. 187/90; | 8. Marcador 100pb. |

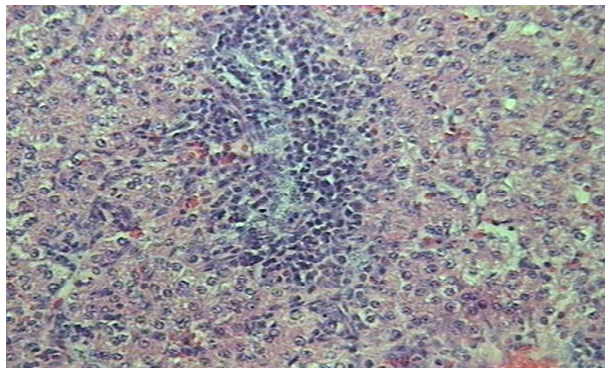


Figura 3: Hepatite (826/88)

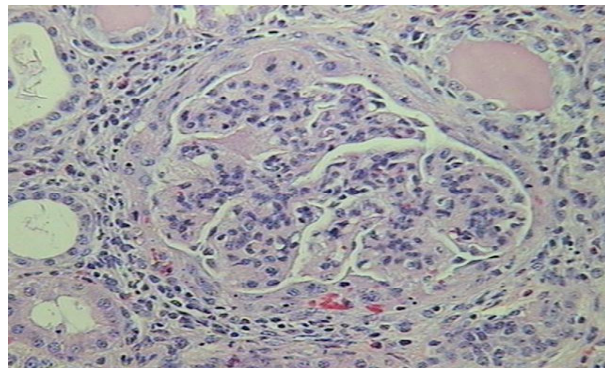


Figura 4: Glomerulonefrite(78/90)

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.; ASCOLI, K.; SIMON, N., MORES, N.; OLIVEIRA, S.R.; KRAMER, B. Porcine circovirus type 2 (PCV2): a pathogenic emerging disease virus identified in archived tissues from Brazilian swine herds. **Virus Reviews and Research**, v.9,n.1, p 99-100, 2004.

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 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.

Comunicado Técnico, 388

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@cnpas.embrapa.br

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

Comitê de Publicações

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

Revisores Técnicos

Cícero J. Monticelli, Liana Brentano.

Expediente

Supervisão editorial: Tânia Maria Biavatti Celant.
Editoração eletrônica: Simone Colombo.
Normalização bibliográfica: Irene Z. P. Camera.
Foto Capa: J. Ellis, da Universidade de Saskatchewan, Canadá.