

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DA CIRCOVIROSE SUÍNA NO
RIO GRANDE DO SUL

André Mendes Ribeiro Corrêa

PORTO ALEGRE
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DA CIRCOVIROSE SUÍNA NO
RIO GRANDE DO SUL

André Mendes Ribeiro Corrêa

Orientador:

Prof. Dr. David Driemeier

Dissertação apresentada como requisito
para obtenção de grau de mestre em
Ciências Veterinárias, na área de
concentração em Patologia Veterinária,
na Universidade Federal do Rio Grande
do Sul.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Sandra, pelo incentivo, apoio e, principalmente, pelo amor a mim dedicado.

Ao meu pai Flávio, pelo amor e por todos os valores que me ensinou e ainda ensina.

Ao Tônio pela felicidade proporcionada a minha mãe e a mim, conseqüentemente, a toda a minha família.

À Bitá pela paixão e companheirismo dedicados aos meus irmãos, a mim, e principalmente ao meu pai.

Aos meus irmãos Eduardo e Zuleica, pela cumplicidade e incentivo em todos os momentos de nossas vidas.

Aos meus outros “irmãos”, Matucho, Xalalá e Freitas pelas aprontadas e sufocos passados juntos na época da graduação.

A toda minha família, tios, primos e avós, por acreditarem na minha capacidade.

Ao meu orientador David, pelo exemplo de conduta, incentivo e principalmente pela amizade nesses quase sete anos de convívio.

A toda a família “Setor de Patologia Veterinária” da UFRGS: Ângely, Marríli, Moleta, Anderson, Sandra, Pri, Ximítz, Carolinge, Titi, Cláudio, Cami, Xênia, Vivi, DJ, Eduardo, Pedro, Mauro, Paulinho, Ogro, Vacaria, Adriana, Alexandre e demais estagiários pela simples amizade e convívio. Em especial a colega Rozza pelos milhares de ILH (infiltrado linfocitário) anotados nos fins de semana.

Aos demais professores do Setor, Rose, Alexandre e Heloísa pelo incentivo e apoio.

A todo o pessoal do Setor de Suínos da Favet, principalmente nas figuras do professor David Barcellos e do colega Willian, pelos ensinamentos, experiências e ajuda.

A todos meus amigos da Faculdade de Veterinária da UFMT.

A todas aquelas pessoas, que de uma forma ou de outra, tornaram isso possível.

Aos suínos, ao Porcine Circovirus Type 2 e patógenos associados, pelas aulas de histopatologia.

Por fim, a Favet e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| LISTA DE TABELAS | 5 |
| LISTA DE ILUSTRAÇÕES | 6 |
| ABSTRACT..... | 10 |
| 1 - INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 - REVISÃO DE LITERATURA | 13 |
| 2.1 - Etiologia | 13 |
| 2.2 - Epidemiologia | 14 |
| 2.3 - Patogenia | 16 |
| 2.4 - Síndrome da refugagem multissistêmica (SRM) | 17 |
| 2.5 - Síndrome de dermatite e nefropatia suína (SDNS) | 19 |
| 2.6 - PCV2 e problemas reprodutivos | 20 |
| 2.7 - PCV2 e tremor congênito..... | 20 |
| 2.8 - PCV2 associado ao complexo da doença respiratória suína (CDRS) | 21 |
| 2.9 - Diagnóstico | 22 |
| 2.10 - Controle..... | 23 |
| 3 - MATERIAL E MÉTODOS..... | 25 |
| 3.1 - Aspectos gerais..... | 25 |
| 3.2 - Patologia macroscópica..... | 25 |
| 3.3 - Patologia microscópica | 25 |
| 3.4 - Microbiologia..... | 26 |
| 3.5 - Técnica de imunoistoquímica | 26 |
| 4 - RESULTADOS..... | 28 |
| 4.1 - Avaliação clínica | 28 |
| 4.2 - Avaliação macroscópica..... | 34 |
| 4.3 - Avaliação microscópica | 49 |
| 4.4 - Avaliação microbiológica | 60 |
| 4.5 - Avaliação imunoistoquímica..... | 61 |
| 5 – DISCUSSÃO | 64 |
| 6 – CONCLUSÕES..... | 68 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 69 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Frequência dos principais sinais clínicos observados nos 471 suínos com circovirose. | 33 |
| Tabela 2 - Frequência das principais lesões macroscópicas observadas na necropsia de 523 suínos com circovirose. | 48 |
| Tabela 3 - Frequência das principais lesões microscópicas encontradas em 523 suínos com circovirose. | 59 |
| Tabela 4 - Agentes bacterianos de diarreia associados à circovirose suína..... | 61 |
| Tabela 5 - Resultado dos exames imunoistoquímicos de fragmentos de linfonodos, pulmões e rins de 56 casos de circovirose suína. | 63 |

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Inspeção. Lote de suínos com suspeita de circovirose. Emagrecimento acentuado..... | 28 |
| Figura 2 - Suíno. Pele. Síndrome de dermatite nefropatia. Lesões características distribuídas pela região perineal e membros pélvicos. | 29 |
| Figura 3 - Suíno. Pele. Síndrome de dermatite nefropatia. Note a saliência e a margem eritematosa. Fase inicial. | 30 |
| Figura 4 - Suíno. Pele. Síndrome de dermatite nefropatia. Aspecto macroscópico das lesões coalescentes. | 30 |
| Figura 5 - Suíno. Pele. Síndrome de dermatite nefropatia. Aspecto macroscópico da lesão na fase crônica. Formação de placas necróticas. | 31 |
| Figura 6 - Suíno. Circovirose. Mucosa ocular; icterícia discreta. | 31 |
| Figura 7 - Suíno. Circovirose. Diarréia com coloração marrom-clara. | 32 |
| Figura 8 - Suíno. Circovirose. Inclinação lateral da cabeça para o lado da orelha pendente (otite). | 33 |
| Figura 9 - Suíno. Circovirose. Membro anterior. Bursite; punção de líquido seroso translúcido na região do carpo..... | 34 |
| Figura 10 - Suíno. Boca e língua. Circovirose. Candidíase muco-cutânea; lesões ulcerativas e placas amareladas. | 35 |
| Figura 11 - Suíno. Circovirose. Esôfago torácico; pseudomembranas amareladas nos terços distais..... | 35 |
| Figura 12 - Suíno. Circovirose. Linfonodos inguinais; linfadenomegalia moderada..... | 36 |
| Figura 13 - Suíno. Linfonodo mesentérico. Circovirose. Regiões brancacentas multifocais e coalescentes. | 36 |
| Figura 14 - Suíno. Linfonodo inguinal. Síndrome de dermatite nefropatia. Aumento de volume e avermelhamento acentuados. | 37 |
| Figura 15 - Suíno. Baço. Circovirose. Esplenomegalia acentuada com infarto e escurecimento difuso. | 37 |
| Figura 16 - Suíno. Baço. Circovirose. Infarto focal com aumento do relevo e margem hiperêmica. | 38 |

| | |
|---|----|
| Figura 17 - Suíno. Baço. Circovirose. Diminuição de volume, aderência de omento, irregularidade do parênquima e amarelamento difuso. | 38 |
| Figura 18 - Suíno. Estômago. Circovirose. Ulceração crônica, depressão acentuada do quadrilátero esofágico, e fibrose acentuada..... | 39 |
| Figura 19 - Suíno. Circovirose. Candidíase muco-cutânea. Estômago; formação de pseudomembrana e ulceração na região do quadrilátero esofágico; | 39 |
| Figura 20 - Suíno. Circovirose. Intestino delgado; aspecto leitoso da serosa, retenção de linfa e evidenciação vascular..... | 40 |
| Figura 21- Suíno. Circovirose. Intestino delgado. Placas de Peyer. Acima; hiperplasia e congestão. Abaixo: deposição de material fibrino-necrótico. | 40 |
| Figura 22 - Suíno. Circovirose. Cólon; edema de mesocólon e ulceração necrótica. | 41 |
| Figura 23 - Suíno. Circovirose. Cólon; colite fibrino-necrótica multifocal. | 41 |
| Figura 24 - Suíno. Circovirose. Fígado; manchas avermelhadas multifocais difusamente distribuídas. | 42 |
| Figura 25 - Suíno. Circovirose. Fígado; icterícia e diminuição do parênquima (direita) em comparação com a víscera controle (esquerda)..... | 42 |
| Figura 26 - Suíno. Circovirose. Rins; pontos brancos multifocais..... | 43 |
| Figura 27 - Suíno. Circovirose. Rim; estrias radiais brancas na região cortical..... | 43 |
| Figura 28 - Suíno. Circovirose. Rins; aumento de volume, palidez e irregularidade da superfície cortical. | 44 |
| Figura 29 - Suíno. Síndrome de dermatite nefropatia suína. Rim; pontos vermelhos na superfície cortical. No detalhe; outro caso acentuado da mesma alteração..... | 44 |
| Figura 30 - Suíno. Circovirose. Pulmão; não colabamento, consolidações crânio-ventrais e edema interlobular. | 45 |
| Figura 31 - Suíno. Circovirose. Coração; atrofia serosa da gordura. | 45 |
| Figura 32 - Suíno. Circovirose. Coração; pericardite fibrino-purulenta..... | 46 |
| Figura 33 - Suíno. Circovirose. Cérebro e cerebelo; petéquias na superfície cerebelar..... | 46 |
| Figura 34 - Suíno. Circovirose. Secção transversal do cerebelo; hemorragias e amarelamento gelatinoso da substância branca na região superior. | 47 |
| Figura 35 - Suíno. Síndrome de dermatite e nefropatia. Derme; vasculite com infiltrado inflamatório misto (Obj. 20, HE). | 49 |
| Figura 36 - Suíno. Circovirose. Esôfago; necrose do epitélio, infiltrado inflamatório purulento e presença de pseudo-hifas PAS positivas (Obj. 40, PAS). | 50 |

| | |
|---|----|
| Figura 37 - Suíno. Circovirose. Linfonodo; infiltrado histiocitário centrofolicular (Obj. 10, HE). No detalhe; inclusões intra-citoplasmáticas em forma de cacho de uva (Obj. 20, HE) | 51 |
| Figura 38 - Suíno. Circovirose. Linfonodo; Depleção linfóide, edema e células gigantes (Obj. 40, HE). | 52 |
| Figura 39 - Suíno. Circovirose. Baço; degeneração fibrinóide da artéria centrofolicular (Obj. 40, HE). | 52 |
| Figura 40 - Suíno. Circovirose. Íleo; dilatação dos vasos linfáticos nas vilosidades (Obj. 10, HE). | 53 |
| Figura 41 - Suíno. Circovirose. Cólon; enterite fibrinonecrótica (Obj. 4, HE). | 54 |
| Figura 42 - Suíno. Circovirose. Fígado; infiltrado linfoistiocitário, necrose individual de hepatócitos, picnose nuclear e corpos eosinofílicos (Obj. 40, HE). | 55 |
| Figura 43 - Suíno. Circovirose. Rim; nefrite intersticial acentuada e dilatação de túbulos (Obj. 10, HE). | 56 |
| Figura 44 - Suíno. Síndrome de dermatite e nefropatia. Rim; glomerulite fibrino-exsudativa (Obj. 40, PTAH). | 56 |
| Figura 45 - Suíno. Circovirose. Pulmão; pneumonia intersticial com células gigantes e bronquiolite purulenta (Obj. 10, HE). | 57 |
| Figura 46 - Suíno. Circovirose. Coração; pericardite fibrino-purulenta com grumos bacterianos (Obj. 4, HE). | 58 |
| Figura 47 - Suíno. Circovirose. Cerebelo; edema e vasculite mononuclear com extravasamento de glóbulos eosinofílicos e hemácias (Obj. 40, HE). | 58 |
| Figura 48 - Suíno. Circovirose. Linfonodo; marcação centrofolicular positiva em monócitos e histiócitos (Obj. 40, IHQ). | 61 |
| Figura 49 - Suíno. Circovirose. Pulmão; marcação positiva em macrófagos alveolares (Obj. 40, IHQ). | 62 |
| Figura 50 - Suíno. Circovirose. Rim; marcação positiva no epitélio das alças de Henle (Obj. 20, IHQ). | 62 |

RESUMO

Este estudo incluiu 523 suínos, entre três e quatro meses de idade, com sinais clínicos sugestivos de circovirose. A maioria (471) desses animais foi recebida viva no Setor de Patologia Veterinária – SPV/UFRGS, onde foram avaliados clinicamente, eutanasiados e necropsiados. Os principais sinais observados foram caquexia, crostas eritematosas circulares na pele, alterações articulares, palidez ou icterícia de mucosas, diarreia, sinais respiratórios e sinais nervosos. Os principais achados macroscópicos foram linfadenomegalia, pulmões não colapsados, consolidações pulmonares, hiperqueratose do quadrilátero esofágico, esplenomegalia, rins pálidos ou amarelados com pontos brancos, ascite, hidropericárdio e hidrotórax. Fragmentos de pele, linfonodo inguinal, linfonodo mesentérico, tonsila, baço, íleo, cólon, fígado, rim, pulmão, coração e cérebro foram coletados e processados convencionalmente para histologia. As principais alterações microscópicas incluíram infiltrado linfoistiocitário e depleção centrofolicular em órgãos linfóides, infiltrado linfoistiocitário nos intestinos, pneumonia intersticial, hepatite portal mononuclear, nefrite intersticial e hiperplasia centrofolicular, edema e dilatação de vasos linfáticos dos intestinos e linfonodos. Amostras de cólon e íleo de 111 suínos que apresentavam conteúdo de consistência fluida foram coletadas e processadas para bacteriologia. Em 27 desses animais foram detectados agentes bacterianos patogênicos. *E. coli* foi o mais prevalente, mas *Salmonella* sp. e *Brachyspira* sp. também foram detectadas. Cortes de linfonodos mesentéricos, pulmões, rins e intestinos de 56 animais foram submetidos à imunoistoquímica com anticorpo policlonal anti-PCV2. Destes, amostras de 50 foram positivas. Os achados clínicos e macroscópicos desses animais foram compatíveis com circovirose, mas a associação de lesões histológicas características da doença com a presença do PCV2, demonstrada imunoistoquimicamente, foi diagnóstica.

ABSTRACT

This report includes 523 pigs 3-4-month-old that showed clinical signs suggestive of circovirolosis. Most of them (471) arrived alive in the Department of Veterinary Pathology – UFRGS, where they were clinically evaluated, euthanized and necropsied. The main signs were emaciation, rounded eritematous skin lesions, articular lesions, pale or icteric mucosae membranes, diarrhea, and signs of respiratory and nervous disorders. The major gross lesions included enlarged lymph nodes and spleen, non collapsed lungs, lung consolidations, esophagic hyperkeratosis, pale or yellow kidneys with white spots, ascites, hydropericardium, and hydrothorax. Fragments of skin, lymph nodes (mesenteric, inguinal), tonsils, spleen, ileum, colon, liver, kidneys, lungs, heart, and brain were sampled and conventionally processed. Histological findings were mainly lymphohistiocytic infiltrates and centrofolicular depletion in lymphoid tissues, lymphohistiocytic infiltrates within intestines, interstitial pneumonia, mononuclear portal hepatitis, interstitial nephritis, and centrofolicular hyperplasia, oedema, and dilatation of lymphatic vessels from intestines and lymph nodes. A number of additional findings were also described. Samples of colon and ileum from 111 pigs, in which intestinal contents were liquid, were processed for bacteriology and in 27 of those pathogenic bacteria were detected. E. coli was the most prevalent, but Salmonella sp. and Brachyspira sp. were also present. Sections of mesenteric lymph nodes, lungs, kidneys, and intestines from 56 pigs were processed for immunohistochemical probing using polyclonal antibody against to PCV2. Positive reactions were seen in sections from 50 of those samples. The clinical and macroscopic findings of these animals were consistent with circovirolosis, but the association of the characteristic microscopic lesions with the presence of PCV2, immunohistochemically demonstrated, was diagnostic for this disease.

1 - INTRODUÇÃO

A carne suína é a proteína de origem animal mais consumida mundialmente. O constante aprimoramento tecnológico da suinocultura moderna tem obtido altos níveis de eficiência. Entretanto pequenas falhas no manejo podem gerar grandes prejuízos econômicos.

Atualmente, o circovírus suíno tipo 2 (PCV2) vem causando grandes perdas para as granjas produtoras em todo o mundo. A principal manifestação clínica da infecção em rebanhos suínos é a síndrome da refugagem multissistêmica (SRM). Outras manifestações clínicas associadas com a infecção pelo PCV2 incluem a síndrome dermatite e nefropatia suína (SDNS), o complexo de doenças respiratórias suínas, tremores congênitos tipo A2 e os distúrbios reprodutivos e associados com a presença do vírus. Neste trabalho, o termo “circovirose” será utilizado para designar todas essas manifestações clínicas causadas pelo PCV2.

A SRM pode acometer suínos de várias categorias, mas usualmente atinge animais entre cinco e doze semanas de vida. A taxa de letalidade varia significativamente e atinge índices altos quando há associação com outros patógenos, principalmente de origem bacteriana e viral. A morbidade pode atingir índices de até 30% e é a principal causa dos prejuízos econômicos, pois na maioria dos casos, os animais seguem ingerindo quantidades satisfatórias de ração, porém a baixa eficiência alimentar, refletida na refugagem, impede o abate no período normal. Muitas vezes, esses animais refugos são acometidos por doenças oportunistas e morrem depois de um longo e laborioso período de tentativas de recuperação.

No Brasil, a SRM foi descrita pela primeira por Zanella e Mores (2001), no estado de Santa Catarina e o primeiro relato no Rio Grande do Sul foi feito por Pescador e colaboradores, em 2003.

Tratando-se de uma enfermidade relativamente nova, muitos aspectos epidemiológicos, clínicos e/ou patológicos ainda permanecem obscuros. Atualmente, a confirmação da SRM depende significativamente do exame histopatológico, fato esse que diverge dos métodos diagnósticos comumente utilizados na suinocultura moderna.

Sabe-se que o PCV2 atinge e desregula de forma significativa o sistema imunológico dos suínos afetados pela SRM, o que tem sido evidenciado pelas inúmeras descrições de infecções oportunistas que têm sido associadas com a presença do PCV2.

O presente trabalho teve como objetivo a descrição de aspectos clínicos e patológicos da circovirose suína no Rio Grande do Sul. Este estudo incluiu os exames de necropsia e histopatologia (Setor de Patologia Veterinária - SPV, UFRGS) e os exames microbiológicos (Setor de Suínos - UFRGS), realizados entre 2004 e 2005.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Etiologia

A família Circoviridae compreende um grupo de patógenos virais de DNA pequeno que infecta plantas, pássaros e porcos (ALLAN et al., 1998). Circovírus são vírus com cerca de 17 nm e com genomas em torno de 1,76 kb (entre os menores do mundo) (TODD, 2000). Esta família é composta principalmente por três membros, o vírus da anemia infecciosa das galinhas, o vírus da doença das penas e bico dos psitacídeos e o circovírus suíno (TODD, 2000). Seu nome foi proposto por Tischer et al. (1982) em reconhecimento à forma circular que assume devido à ligação covalente de suas extremidades.

O circovírus suíno (PCV) é reconhecido como o menor vírus não-envelopado, de simetria icosaédrica, DNA circular fita simples que tem autonomia para replicar em células de mamíferos (TODD, 1991). São descritos, atualmente, dois tipos de circovírus suíno, o circovírus suíno tipo1 (porcine circovirus type1 - PCV1) e o circovírus suíno tipo2 (porcine circovirus type2 - PCV2) (ALLAN et al., 1998). O PCV1 é considerado contaminante persistente de linhagens de células renais suínas PK-15 (Porcine Kidney) de cultivo (TISCHER et al., 1974) e embora tenha sido encontrado em fetos mumificados e animais com a síndrome da refugagem multissistêmica (SRM) (ALLAN et al., 1995; LeCANN et al., 1997), é considerado apatogênico, pois não causa efeito citopático em cultivo celular e sua inoculação experimental isolada não causou efeito clínico ou patológico (TISCHER et al., 1986; ALLAN et al., 1995).

Em contraste com o PCV1, o PCV2 é reconhecido atualmente como o principal agente da SRM e também tem sido isolado nas diversas formas de manifestações clínicas da circovirose em suínos (CHAE, 2004; SEGALLES et al., 2004).

Os vírus PCV1 e PCV2 são diferentes. O genoma do PCV1 é conhecido e já foram identificadas 7 ORFs (*open reading frames*) ou fases abertas de leitura, com capacidade de codificar proteínas de peso molecular superior a 5kDa, sendo a maior delas, ORF1, de 37,5 kDa (MEEHAN et al., 1998). Esta proteína não apresentou homologia com nenhuma proteína de outros circovírus animais, mas sim com circovírus de plantas como o BBTV

(*banana bunchy top circovirus*), SCSV (*subterranean clover stunt virus*) e CFDV (*coconut foliar decay virus*), ou seja, circovírus da banana, trevo e coco, respectivamente. Os genomas de mais de 20 isolados de PCV2 da Europa, América do Norte e sudeste asiático já foram analisados (ALLAN & ELLIS, 2000), tendo sido encontrada homologia de 96% entre as amostras. Em comparação, a sequência genômica de PCV1 e PCV2 se assemelha em menos de 80%.

Já foram identificadas duas ORFs, ORF1 e ORF2 com mais de 600 nucleotídeos em comprimento no genoma do PCV2. A ORF1 codifica uma proteína, a Rep, essencial para replicação do DNA viral, enquanto a ORF2 codifica uma proteína estrutural do capsídeo viral, com massa molecular de 30KDa. Anticorpos para essa proteína foram identificados em suínos infectados experimentalmente com PCV2 apenas três semanas pós-inoculação (NAVAGITGUL et al., 2000).

2.2 - Epidemiologia

Poucas informações epidemiológicas têm sido divulgadas. Os primeiros relatos da SRM no oeste do Canadá ocorreram em rebanhos de alto padrão sanitário (CLARK, 1997). Esses rebanhos eram livres dos principais patógenos entéricos e respiratórios que afetam suínos, incluindo o vírus da síndrome reprodutiva e respiratória suína (PRRSV). Os rebanhos afetados eram de diferentes tipos de produção, e incluíam granjas produtoras de leitão até granjas de ciclo completo. Um estudo canadense indicou que anticorpos para o PCV2 estão presentes em animais de rebanho SPF (*specific pathogen-free*), unidades de engorda e também em criações de fundo de quintal (ALLAN & ELLIS, 2000). A SRM é atualmente endêmica em muitos países e continua sendo a maior causa de refugagem em rebanhos suínos (CHAE, 2004). Quando seqüenciados, os diferentes isolados de PCV2 de regiões distintas do planeta, têm sido virtualmente idênticos entre si (HARDING, 1997; MEEHAN et al., 1998). A incidência da infecção do PCV2 é alta (quase 100%) em todos os rebanhos comerciais suínos que têm sido testados e soros armazenados por mais de trinta anos já continham anticorpos, indicando que o PCV2 não é um vírus que surgiu recentemente, mas sim um vírus descoberto recentemente (WALKER et al., 2000). Na Espanha, um estudo retrospectivo revelou um caso da SRM de 1986, com lesões macroscópicas e histológicas compatíveis e comprovação da presença de antígenos de PCV2 (RODRÍGUEZ-ARRIOJA et al., 2003). Essa observação indica que as doenças

associadas ao PCV2, principalmente a SRM, tiveram um pequeno intervalo na variação de tempo entre “casos esporádicos” e uma epidemia global de importância econômica.

Usualmente, os animais afetados pela SRM estão entre a quinta e a 12ª semanas de vida. A morbidade e mortalidade associadas com a SRM dependem basicamente do período do surto, bem como das condições de manejo implantadas nas granjas. Em surtos agudos, o total de mortalidade pode atingir 10% ou mais, entretanto a mortalidade e a morbidade em áreas endêmicas costumam ser menores. Alguns animais podem se recuperar da SRM, porém esse fato tem sido pouco documentado. Fatores ambientais como mudanças de temperatura, superlotação, qualidade de ar inadequada, agrupamentos de animais de diferentes categorias, entre outros fatores estressantes, podem exacerbar a severidade da doença (HARDING & CLARK, 1998). Bem como outros membros da família Circoviridae, os viriões do PCV2 são muito estáveis e condições adversas tais como ressecamento, aquecimento, alta umidade e desinfetantes comuns causam mínimos efeitos sobre a infectividade viral (ROYER et al., 2001).

O modo de infecção pode afetar a patogenicidade e a expressão clínica da infecção pelo PCV2 (CHAE, 2004). A transmissão pode ser vertical e horizontal. A vertical é aquela em que os genitores transmitem o agente infeccioso para a prole durante a gestação ou parto. A horizontal é aquela em que o agente infeccioso é passado entre animais, por inúmeras outras formas, após o nascimento.

Acredita-se que a principal rota de transmissão seja através do contato oronasal direto, e a infecção experimental por essa rota foi reproduzida (ELLIS et al., 1999). A soroconversão ocorre geralmente entre a terceira e quarta semanas pós-desmame, ou seja, entre a oitava e 12ª semanas de idade. A presença de anticorpos simultaneamente com a presença de vírus circulante já foi detectada por PCR e ocorre regularmente em animais assintomáticos (NAYAR et al., 1997). Na África do Sul, a probabilidade do PCV2 ter sido importado via sêmen congelado foi sugerida. Essa pode ter sido uma rota efetiva para a disseminação mundial do vírus (DREW et al., 2004). As rotas de excreção do PCV2 que têm sido descritas incluem a bronquial, nasal, tonsilar, fecal e urinária (CALSAMIGLIA et al., 2004).

Os vírus da peste suína clássica, da síndrome reprodutiva e respiratória suína, parvovírus suíno, enterovírus suíno, vírus da encefalomiocardite e o vírus da doença de Aujeszky são capazes de atravessar a barreira placentária. O PCV2 também foi incluído na lista dos vírus que causam infecção transplacentária em porcas (PENSAERT et al., 2004).

causando morte fetal e abortos associados com infecção uterina (WEST et al., 1999), e essas alterações foram reproduzidas com a inoculação intra-uterina do PCV2 em fetos em desenvolvimento (SANCHEZ et al., 2001).

2.3 - Patogenia

A patogenia do PCV2 e sua participação na SRM permanece pouco compreendida. A presença do PCV2 tem sido demonstrada em monócitos, macrófagos e células dendríticas foliculares, mas sua replicação nestas células não (KRAKOWKA et al., 2002; VINCENT et al., 2003). A presença do PCV2 nas células dendríticas não parece ocorrer por endocitose, pois não foi detectada nenhuma alteração nas proteínas de superfície dos MHC (major histocompatibility complex) classe 1 e 2 (VINCENT et al., 2003).

A possibilidade do PCV2 tirar vantagem da natureza fagocítica e fusogênica dos macrófagos para facilitar a sua disseminação de uma célula à outra tem sido sugerida (KRAKOWKA et al., 2002; VINCENT et al., 2003). Os monócitos infectados podem atuar como veículos reservatórios de vírus, espalhando o vírus pelos sistemas, incluindo os órgãos linfóides, além de impossibilitar o contato do PCV2 com os anticorpos específicos (VINCENT et al., 2003). A depleção linfocítica dos órgãos linfóides não é causada pelo efeito citopático direto do PCV2, pois ele não replica em linfócitos (KRAKOWKA et al., 2001; MANDRIOLI et al., 2004; VINCENT et al., 2003). No entanto, depleção linfocítica e leucopenia são as principais lesões histopatológicas encontradas tanto em animais sub-clinicamente infectados pelo PCV2, bem como em animais acometidos pela SRM (ALLAN & ELLIS, 2000; ELLIS et al., 1999). Mandrioli et al. (2004) sugerem que a depleção linfóide induzida pelo PCV2 não é causada pela apoptose, mas talvez pela diminuição da proliferação linfocítica. O PCV2 utiliza uma rota alternativa para desregular o sistema imune dos suínos, possibilitando a ocorrência da SRM. Darwich et al. (2003) demonstraram que o PCV2 desregula o sistema imunológico causando diminuição na expressão do fator de crescimento IL-4 de células B, na ação do T citotóxico e citocina IL-2 ativadora de macrófagos, na resposta IFN γ antiviral e no aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias IL-1 e IL-8. Baseado nesse estudo, tem sido sugerido que o PCV2 atue através da modulação do sistema-imune, se preservando de uma resposta anti-viral apropriada.

Interessantemente, a maioria dos suínos é infectada pelo PCV2 durante o período de desmame, mas somente uma minoria deles progride para a condição clínica da SRM (CALSAMIGLIA et al., 2002). Suínos com a SRM são significativamente mais virêmicos do que aqueles animais subcl clinicamente infectados pelo PCV2 (NIELSON et al., 2002). O mais importante neste caso é que os animais também desenvolvem leucopenia imediatamente depois do início dos sinais clínicos da SRM. A leucopenia associada com altos níveis de viremia do PCV2 parecem ser os fatores mais predisponentes para a ocorrência da SRM em animais experimentais. Consequentemente, se a viremia e a leucopenia causada pelo PCV2 forem controladas, a progressão da infecção pelo PCV2 para a SRM tende a ser freada.

2.4 - Síndrome da refugagem multissistêmica (SRM)

A primeira descrição da SRM ocorreu em 1991, em Saskatchewan, oeste do Canadá (HARDING, 1996). Somente no final da década de noventa o PCV2 foi associado às lesões de animais afetados (CLARK, 1997) e diferenciado das amostras virais apatogênicas de linhagens PK-15 de cultivo celular (HAMEL et al., 1998). Desde então, a SRM tem sido descrita em países produtores de suínos em todo o mundo e apresenta caráter emergente (ALLAN & ELLIS, 2000).

A SRM causada pelo PCV2 é caracterizada clinicamente por dispnéia, emagrecimento progressivo, icterícia ou palidez, diarreia e aumento de volume dos linfonodos em leitões de cinco a doze semanas de idade (CLARK, 1997).

Muitos dos sinais da doença são inespecíficos. Existem numerosas outras doenças que apresentam emagrecimento progressivo, sinais respiratórios e diarreia. Em analogia, muitos dos animais necropsiados não demonstram claramente os achados característicos da SRM, então, uma forte suspeita da SRM só pode ser obtida macroscopicamente quando do aparecimento significativo de lesões (CHAE, 2004).

Na necropsia, os principais achados são nos linfonodos, rins e pulmão. O pulmão se apresenta não colapsado ou “armado”, moteado e, em boa parte dos casos, com consolidações crânio-ventrais e edema interlobular. Todos os linfonodos e agregados linfóides se apresentam aumentados, mas mais notoriamente esse aumento é observado nos linfonodos inguinais, submandibulares, mesentéricos e mediastínicos (ROSSEL et al., 1999). As lesões renais macroscópicas variam desde pequenos pontos brancos multifocais

até grandes manchas coalescentes na região cortical, podendo a víscera estar ou não aumentada de volume, mas usualmente exibindo uma coloração mais pálida (ALLAN & ELLIS, 2000).

Na avaliação microscópica, a lesão característica da SRM é a inflamação granulomatosa com células gigantes e, em alguns casos, numerosos corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos nos tecidos linfóides como os linfonodos, baço e tonsilas. Numa pequena proporção de casos os linfonodos podem apresentar focos de necrose coalescentes claramente visíveis na macroscopia. Infiltrado linfoistiocitário ou granulomatoso, podendo ou não apresentar células gigantes é também observado nos rins e pulmões (ALLAN & ELLIS, 2000).

Contudo, essas lesões não estão sempre presentes e não podem ser usadas isoladamente como critério diagnóstico. O diagnóstico final da SRM é baseado em três critérios (SORDEN, 2000; QUINTANA et al., 2001): (a) a presença de sinais clínicos compatíveis, basicamente o definhamento; (b) presença de lesões histopatológicas compatíveis nos tecidos linfóides e (c) a presença do PCV2 (antígeno ou ácido nucléico) junto às lesões microscópicas.

No entanto, em granjas afetadas pela SRM é possível se encontrar animais saudáveis com lesões microscópicas típicas de SRM, de grau leve ou moderado e com pouca ou moderada quantidade de ácidos nucléicos de PCV2 (QUINTANA et al., 2001). Além disso, um percentual dos suínos afetados pela SRM apresenta recuperação e, apesar da emaciação evidente dos animais nesse estágio crônico, a análise histopatológica revela discreta presença ou ausência de lesões compatíveis com a doença e também pouca quantidade de PCV2 nos tecidos linfóides. Por isso, o melhor material para se avaliar as lesões macro e microscópicas são provenientes de animais com uma semana de evolução clínica da doença (SEGALÉS et al., 2004).

2.5 - Síndrome de dermatite e nefropatia suína (SDNS)

A síndrome de dermatite e nefropatia suína foi descrita primeiramente no Reino Unido (SMITH et al., 1993). Desde então, países em todo o mundo têm relatado casos dessa condição, sugerindo a distribuição mundial de SDNS. A detecção clínica da SDNS é relativamente fácil, tendo em vista a presença de infartos cutâneos hemorrágicos nos animais acometidos, principalmente localizados no trem posterior e região perineal, podendo apresentar distribuição generalizada (HÉLIE et al., 1995).

Na necropsia da maioria dos suínos acometidos são observados rins acentuadamente aumentados de volume, pálidos e com presença de petéquias na região cortical (SEGALÉS et al., 2004). Alguns suínos com lesão renal e sem lesões de pele e outros com lesão renal discreta ou ausente são considerados casos atípicos da SDNS e têm vasculite necrosante sistêmica (SEGALÉS et al., 2004).

O principal achado histopatológico nos casos de SDNS é a presença de glomerulonefrite fibrino-exsudativa. Esse achado microscópico, juntamente com a presença de imunoglobulinas e fatores do complemento nos vasos e glomérulos afetados, sugere uma reação de imunocomplexos (hipersensibilidade do tipo III) como um possível mecanismo patogênico para essa apresentação (SIERRA et al., 1997). Fibrose intersticial difusa, nefrite intersticial linfocitária com dilatação e deposição de material proteináceo nos túbulos normalmente acompanham a lesão glomerular. Depleção linfocitária de linfonodos moderada a massiva tem sido regularmente observada. Em aproximadamente 50% dos suínos afetados há infiltrado inflamatório granulomatoso com histiócitos e células gigantes nos linfonodos, principalmente na região folicular. Outra lesão comum de animais que apresentam SDNS é a pneumonia intersticial (SEGALÉS et al., 2004).

O antígeno ou antígenos responsáveis e envolvidos nesse desequilíbrio imunocomplexo-mediado permanece por ser esclarecido. Teoricamente, um grande espectro de fatores incluindo químicos, antígenos alimentares, antígenos endógenos e agentes infecciosos podem estar envolvidos (DROLET et al., 1999). Em alguns casos, a SDNS foi associada com a presença do vírus da PRRS concomitantemente com o PCV2. Até o momento a participação de agentes infecciosos figura como a principal suspeita nessa patogenia frente aos demais fatores. No entanto, nenhum patógeno específico tem sido detectado nas lesões glomerulares e vasculares.

2.6 - PCV2 e problemas reprodutivos

Vários trabalhos hoje em dia já descreveram falhas reprodutivas associadas ao PCV2. Os sinais clínicos observados nas granjas afetadas incluem altas taxas de abortos, natimortos e mumificação fetal (O'CONNOR et al., 2001). Abortos nos períodos pré-natais ou na metade da gestação e nascimento de prematuros também têm sido observados (SANCHEZ et al., 2001; KIM et al., 2004-b). A detecção do PCV2 em fetos e natimortos infectados no útero indicam que a transmissão vertical pode ser um importante meio de transmissão (WEST et al., 1999). A transmissão transplacentária em leitoas também já foi reproduzida com sucesso (LADEKJAER-MIKKELSEN et al., 2001). Na histopatologia, são visualizadas lesões principalmente nos pulmões e coração dos fetos. No pulmão é vista uma infiltração mononuclear no espaço alveolar e, no coração, degeneração de miócitos, edema e fibrose com presença de infiltrado linfoistiocitário são os achados mais comuns (WEST et al., 1999; KIM et al., 2004-b). Lesões histológicas significativas não são encontradas em outros órgãos. O índice de viremia é um fator essencial para o PCV2 atravessar a barreira transplacentária. Isso pode ocorrer na forma livre de vírus circulante, associado com células ou de ambas as formas (PENSAERT et al., 2004).

A idade do feto no momento da infecção é o principal fator determinante. Fetos inoculados com PCV2 no primeiro mês de gestação morrem e são reabsorvidos. Fetos inoculados no segundo mês, ou morem, ou são abortados. Nesses casos, o miocárdio desses animais tem abundante proteína viral. Fetos infectados no terço final de gestação são minimamente afetados e nascem virêmicos e soropositivos (SANCHEZ et al., 2001), podendo ou não morrer da infecção (PENSAERT et al., 2004).

A presença do PCV2 em machos infectados foi demonstrada no fluído seminal e nas frações de células não espermáticas (KIM et al., 2001-b). O sêmen utilizado na inseminação artificial apresenta um grande potencial como meio de disseminação do vírus.

2.7 - PCV2 e tremor congênito

O tremor congênito em suínos é associado com a desmielinização do sistema nervoso central (SNC). Casos de tremor congênito onde as lesões de desmielinização são visualizadas na histopatologia são classificados como do “tipo A” e os casos onde

nenhuma lesão é observada na microscopia são classificados como do “tipo B” (DONE & HARDING, 1967).

As possíveis causas incluem: A1, vírus da peste suína clássica; A2, vírus da doença de Aujeszky ou infecção viral desconhecida; A3, gene recessivo ligado ao sexo; A4, gene recessivo autossômico; e A5, intoxicação por Triclorfon. A causa A2 parece ser a forma mais comum do tremor congênito e é caracterizada por contrações clônicas de variável intensidade que diminuem com o passar do tempo e resolvem espontaneamente com no máximo quatro semanas de idade. A mortalidade nos animais afetados pode passar de 50% e é resultante da impossibilidade de aleitamento e esmagamentos (CHAE, 2005). Hines & Lukert (1994) foram os primeiros a relatar a potencial associação do PCV2 ao tremor congênito A2. Posteriormente, o DNA e antígenos do PCV2 foram demonstrados no SNC de leitões afetados através de técnicas de ISH e PCR (STEVENSON et al., 2001). No entanto, trabalhos atuais refutam essa associação (KENNEDY et al., 2003; HA et al., 2005).

2.8 - PCV2 associado ao complexo da doença respiratória suína (CDRS)

O CDRS é caracterizado por atraso no desenvolvimento, diminuição na conversão alimentar, letargia, anorexia, febre, tosse e dispnéia (HALBUR, 1998). A pneumonia apresentada pelos animais com CDRS é causada por uma combinação de agentes bacterianos e virais tais como: PCV2, PRRSV, vírus da influenza suína (swine influenza virus - SIV), *Mycoplasma hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*, e *P. multocida* (THACKER, 2001). A doença acomete animais entre 16-22 semanas de idade. As lesões características da CDRS associada ao PCV2 são pneumonia broncointersticial com fibrose peribronquial e peribronquiolar. Os septos alveolares se apresentam espessos com um infiltrado linfocitário (KIM et al., 2003). Sobretudo, em muitos casos não há como diferenciar claramente entre CDRS e SRM pois, a semelhança clínica é acentuada. As lesões pulmonares macroscópicas causadas pela SRM são virtualmente indistinguíveis de casos de PRRS ou de infecções bacterianas sistêmicas como a salmonelose (HARMS & SORDEN, 2000). O diagnóstico da CDRS - associada com o PCV2 deve ser diferenciado da SRM obedecendo três critérios (KIM et al., 2003): (a) sinais respiratórios e falta de resposta aos tratamentos antimicrobianos, (b) presença de lesões microscópicas

características no pulmão, (c) detecção do PCV2 nas lesões pulmonares e (d) ausência de lesões características da SRM nos tecidos linfóides.

2.9 - Diagnóstico

O diagnóstico da SRM é diferenciado dos outros princípios diagnósticos usuais, pois o PCV2 pode ser isolado de animais saudáveis. A detecção do vírus pode ser feita por sorologia, reação em cadeia de polimerase (PCR), ou isolamento viral, porém não promovem o diagnóstico da SRM, nem indicam que a SRM está em evolução (SORDEN, 2000). A detecção do PCV2 pela técnica de PCR em tecidos não é considerado meio diagnóstico para a SRM (KIM et al., 2001). A técnica de PCR deve ser considerada apenas para a detecção da infecção viral no rebanho (SEGALÉS et al, 2003). Atualmente existe no Canadá, França e Estados Unidos um teste de ELISA específico para PCV2 que vem sendo utilizado para estudos de soroprevalência. Porém, assim como os demais testes supracitados, esse não é recomendado como diagnóstico da doença em potencial (ZANELLA, 2001-b).

A ferramenta mais importante para o diagnóstico da SRM é o exame histopatológico associado com o auxílio de alguma técnica que detecte a presença do vírus na lesão. Os exames de imunohistoquímica (IHQ) e a hibridização *in situ* (*in situ hybridization* - ISH) detectam respectivamente o antígeno e ácidos nucleicos e indicam a localização do PCV2 nos tecidos ou células (CHAE, 2004). McNeilly et al. (1999) demonstraram que a imunohistoquímica para a detecção de antígenos de PCV2 em material fixado em formol e embocado em parafina foi mais sensível que a detecção do DNA do PCV2 pela ISH, entretanto ainda há considerável controvérsia sobre esse tema.

O diagnóstico da SRM pode ser bem preciso se as lesões histológicas forem bem evidentes e aliadas à detecção de grande quantidade do PCV2 no mesmo tecido. A microscopia eletrônica é outra ferramenta diagnóstica (LUKERT, 1999). Adicionalmente, a intensidade das lesões microscópicas é diretamente proporcional à quantidade de PCV2 detectado nos tecidos (SEGALÉS et al, 2003).

Quando lesões histológicas leves são compatíveis com a SRM e poucas quantidades de PCV2 são visualizadas na IHQ ou ISH, deve-se levar em conta o estágio de evolução clínica da doença na interpretação diagnóstica. São consideradas três possibilidades (SEGALÉS et al, 2003): (a) o caso representa uma infecção subclínica pelo

PCV2, (b) é um caso inicial da infecção pelo PCV2 e a severidade das lesões e quantidade de PCV2 poderiam aumentar com a evolução do caso ou (c) o animal estava em uma fase de recuperação após uma crise da SRM. Em concordância com o que foi mencionado, para se estabelecer um diagnóstico preciso de SRM é necessária uma escolha adequada dos animais destinados à coleta de material.

2.10 - Controle

O tratamento de doenças virais é uma tarefa muito difícil. Os vírus são capazes de se replicar usando a maquinaria das células de seus hospedeiros, e obviamente as drogas que interferem na replicação viral quase sempre interferem nas funções essenciais das células. Aparentemente, esse princípio geral não se aplica para as infecções com o PCV2, pois esse vírus tem mostrado uma capacidade de se replicar autonomicamente nas células de mamíferos (CHAE, 2004).

O despovoamento parcial, a separação de leitões recém desmamados em lotes menores, o sistema de vazio sanitário (all-in/all-out) e a higiene são considerados passos essenciais para controlar a disseminação da doença dentro das granjas e minimizar o prejuízo econômico (MADEC, 2002). O PCV2 é um agente notório pela resistência à inativação pelos detergentes e desinfetantes comuns, o que dificulta sobremaneira a desinfecção de ambientes contaminados (ROYER et al., 2001). Entretanto, se toda a sujeira e restos orgânicos forem removidos durante a limpeza, o uso de detergentes potentes pode ser de grande valia. Sobretudo, a utilização de desinfetantes de amplo espectro auxilia no controle de patógenos primários e evita o acúmulo de patógenos secundários, os quais podem ser responsáveis pelas infecções oportunistas que requerem grande atenção no controle da circovirose (MADEC, 2002). Além disso, as medidas de controle incluem a redução do contato entre animais e instalações, diminuição dos fatores estressantes, e implementação de um bom sistema de alimentação com qualidade de nutrientes, controle dos níveis de micotoxinas e evitar a restrição alimentar no período de desmame.

Os anticorpos maternos desaparecem entre a oitava e nona semana após o nascimento e anticorpos primários só são detectáveis entre a 13ª e 15ª semanas de idade. Conseqüentemente, o PCV2 tira vantagem desta “janela imunológica” para exercer seu desafio entre a 11ª e 13ª semanas de idade (LUKERT, 1999). Até o presente momento a

vacinação contra o PCV2 não é possível, e um recente estudo demonstrou a possibilidade da utilização de uma vacina de DNA. A SRM poderá ser extinta no momento da descoberta de uma vacina eficaz (KAMSTRUP, 2004). A vacinação dos animais contra o parvovírus suíno demonstrou ser efetiva na redução de casos clínicos da SRM e na diminuição das lesões características de órgãos linfóides em animais experimentalmente co-infectados com o PCV2 e o parvovírus (OPRIESSNIG, 2004). Além das vacinações rotineiras, identificar e reduzir o efeito das infecções concorrentes é um passo importante para reduzir as perdas com as doenças associadas à SRM. Como diagnóstico diferencial clínico, devem ser consideradas todas as enfermidades que cursam com emagrecimento progressivo, principalmente aquelas causadas por patógenos entéricos. O diagnóstico diferencial das lesões histológicas da SRM deve ser feito em suínos, principalmente frente ao complexo micobacteriose e infecções por *Rhodococcus equi* (THOEN, 1999).

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Aspectos gerais

Dados epidemiológicos e clínicos dos animais necropsiados foram obtidos com proprietários, técnicos agrícolas e médicos veterinários representantes das empresas de integração e também pela inspeção dos suínos no momento da chegada ao Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS).

3.2 - Patologia macroscópica

Foram necropsiados 523 suínos com sinais clínicos compatíveis com circovirose suína. A maioria (471 animais) foi trazida viva ao SPV-UFRGS pelos requisitantes. As necropsias foram realizadas por grupos de três pessoas, das quais duas realizavam a técnica de necropsia que incluía, também, a avaliação dentária e do ouvido e a coleta de material e a terceira era responsável pela identificação, organização do material e pelo registro das principais alterações macroscópicas observadas.

Como método de eutanásia utilizou-se o atordoamento elétrico com posterior sangria. Para exame histológico, fragmentos de pele, linfonodo inguinal, linfonodo mesentérico, timo, tonsila, baço, íleo, cólon, fígado, rim, pulmão, coração e cérebro foram coletados e fixados em formalina 10%.

3.3 - Patologia microscópica

O material coletado foi processado pelas técnicas convencionais de rotina histológica que incluem desidratação, clareamento, impregnação e inclusão em parafina. Cortes de 4 micrômetros foram colocados em banho-maria a 60°C, colhidos com lâminas histológicas cobertas com albumina e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE), PAS (Ácido periódico de Schiff) e PTAH (Hematoxilina fosfotúngstica de Mallory) e (PROPHET et al., 1992) e observados em microscopia óptica.

3.4 - Microbiologia

Amostras de cólon e íleo de 111 suínos que apresentavam conteúdo de consistência fluida foram coletadas e processadas para bacteriologia no Setor de Suínos da Faculdade de Veterinária da UFRGS. Após secção nas áreas proximais do duodeno e distal do reto, o intestino foi removido para uma bandeja e examinado em todos os seus segmentos. O conteúdo intestinal foi semeado em meios de agar-sangue e MacConkey e incubado em aerobiose, a 37°C. A leitura foi realizada por até 72 horas. As bactérias isoladas em cultivo significativo foram submetidas à caracterização fenotípica de acordo com métodos padrões (COWAN, 1974).

Das amostras de *Escherichia coli* isoladas, foram consideradas significativas aquelas que apresentavam β -hemólise e pureza de 40% ou mais na cultura. As amostras que atendiam a esses critérios foram submetidas à soroaglutinação em lâmina com soros polivalentes A, B e C para determinação dos grupos OK (SOJKA, 1965). Para identificação de *Brachyspira* spp. foi realizado um exame direto do conteúdo fecal, usando critérios sugeridos anteriormente (HARRIS et al., 1999).

3.5 - Técnica de imunoistoquímica

Os cortes de linfonodo mesentérico, pulmão, rim e intestinos de 56 animais foram submetidos à técnica de imunoistoquímica (adaptada de SORDEN, 1999). Após serem secados a 60°C por 12 horas (mínimo), os cortes foram desparafinados e tratados com 3% de peróxido de hidrogênio em água destilada por 20 minutos (diminuição da peroxidase endógena), lavados em água destilada por dois minutos, tratados com protease (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) a 0,005% por 15 minutos em câmara úmida e temperatura ambiente e lavados com tampão tris fosfato (TBS tris/phosphate buffered saline) por 2 minutos em temperatura ambiente. Para a diminuição das ligações inespecíficas, os cortes foram tratados com leite desnatado (Molico®) na diluição de 5% por vinte minutos e lavados por 2 minutos em TBS. Após, acrescentou-se o anticorpo policlonal anti-PCV2 (Sorden et al. 1999) a 37°C por 45 minutos na diluição de 1:1000 em câmara úmida. Posteriormente foram lavados em TBS por dois minutos e tratados com anticorpo secundário biotinizado (DAKO LSAB 2 kit, DAKO Corp., Carpinteria, CA) por 15 minutos, lavados e tratados com o conjugado streptavidina-peroxidase (DAKO) por mais

quinze minutos, lavados novamente e submetidos ao cromógeno DAB (diaminobenzidina) (DAKO) por 5-10 minutos. Os cortes foram lavados e contra-corados com hematoxilina por 5-10 segundos. As lâminas foram lavadas em água destilada, desidratadas, clarificadas em xilol e montadas com bálsamo sintético. Como controle positivo foi utilizada uma lâmina de um caso anterior comprovadamente positivo e como controle negativo foi utilizado PBS (phosphate buffered saline) no lugar do anticorpo anti-PCV2 durante a realização da técnica.

4 - RESULTADOS

4.1 - Avaliação clínica

Os 523 suínos deste estudo tinham entre 2 e 4 meses de idade, eram de ambos os sexos e gerados por cruzamentos industriais. Os animais foram avaliados clinicamente quanto ao estado corporal, alterações de pele e mucosas, articulares, sinais respiratórios, neurológicos e digestivos. As principais queixas dos requisitantes foram diminuição do ganho de peso, emagrecimento progressivo (Figura 1) e ocorrência de sinais entéricos e respiratórios.



Figura 1 - Inspeção. Lote de suínos com suspeita de circovirose. Emagrecimento acentuado.

A maioria dos animais apresentava caquexia que era especialmente evidente nos animais mais jovens. Alguns animais mais velhos e com condição corporal satisfatória eram descartados por baixo ganho de peso. Lesões de pele compatíveis com a síndrome de dermatite nefropatia suína (SDNS) foram observadas em 39 animais e consistiam em botões crostosos circulares, eritematosos, de tamanho variável entre 1cm de diâmetro até grandes placas coalescentes, distribuídas em sua maioria no trem posterior e períneo

(Figura 2). Em alguns casos essas lesões eram também generalizadas e disseminadas pelo ventre, flanco, dorso, cabeça e orelhas. Inicialmente, essas lesões circulares eram pequenas, com margem eritematosa e salientes (Figuras 3 e 4). Nos casos com uma semana ou mais de evolução, essas manchas se tornavam escurecidas e espessas, formando placas necróticas (Figura 5), principalmente na região perineal, que se desprendiam e deixavam exposta uma grande área ulcerada.



Figura 2 - Suíno. Pele. Síndrome de dermatite nefropatia. Lesões características distribuídas pela região perineal e membros pélvicos.



Figura 3 - Suíno. Pele. Síndrome de dermatite nefropatia. Note a saliência e a margem eritematosa. Fase inicial.

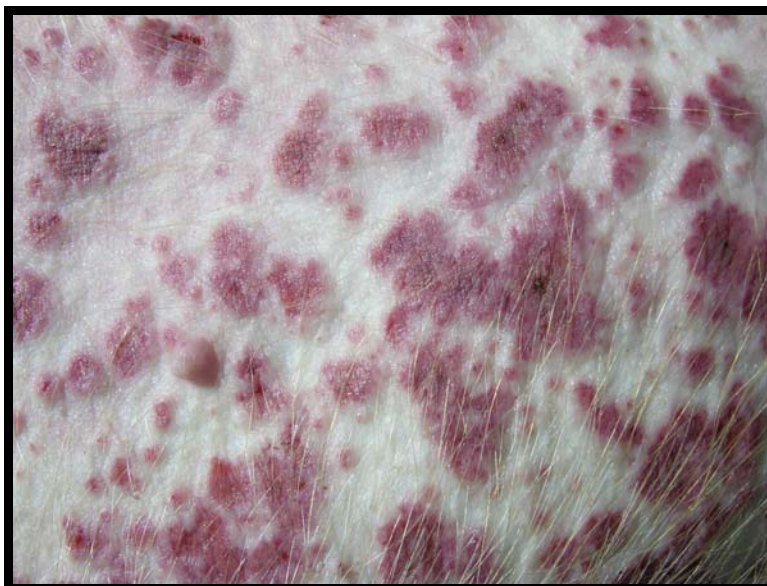


Figura 4 - Suíno. Pele. Síndrome de dermatite nefropatia. Aspecto macroscópico das lesões coalescentes.



Figura 5 - Suíno. Pele. Síndrome de dermatite nefropatia. Aspecto macroscópico da lesão na fase crônica. Formação de placas necróticas.

Artrites e bursites eram comuns e frequentemente afetavam mais de uma articulação por membro. Palidez das mucosas externas e pele foram mais frequentes do que icterícia, que foi observada em 15 animais e variou de casos leves (observáveis somente com uma inspeção acurada das mucosas externas) (Figura 6) até um amarelamento acentuado e generalizado da superfície corporal.



Figura 6 - Suíno. Circovirose. Mucosa ocular; icterícia discreta.

As fezes fluidas (Figura 7) e de coloração marrom-clara não tinham alteração de odor. Frequentemente a diarreia fluía pelo períneo no momento da dessensibilização elétrica.



Figura 7 - Suíno. Circovirose. Diarreia com coloração marrom-clara.

Tosse e espirros acompanhados de respiração abdominal taquipnéica (“batedeira”) foram os sinais respiratórios observados. Cianose das mucosas externas acompanhava casos respiratórios mais severos. Corrimento nasal serosos e muco-purulento também foram observados. Sinais nervosos foram observados em 32 suínos e incluíram incoordenação motora, andar cambaleante, pedalagem, opistótono, nistagmo, demência e desvio lateral da cabeça (Figura 8). Esse último, em muitos casos, esteve associado com diferentes graus de otite purulenta.



Figura 8 - Suíno. Circovirose. Inclinação lateral da cabeça para o lado da orelha pendente (otite).

Em alguns lotes, predominaram sinais clínicos e lesões entéricas, enquanto que, em outros, os sinais predominantes foram respiratórios ou nervosos. Associações entre eles também foram vistas. Os achados clínicos estão sumarizados na tabela 1.

Tabela 1 - Frequência dos principais sinais clínicos observados nos 471 suínos com circovirose.

| Alterações | Frequência | % |
|------------------------|-------------------|----------|
| Caquexia | 296 | 62,8 |
| Sinais respiratórios | 126 | 26,7 |
| Diarréia | 111 | 23,5 |
| Alterações articulares | 87 | 18,4 |
| Palidez | 59 | 12,5 |
| Alterações de pele | 39 | 8,2 |
| Sinais nervosos | 32 | 6,7 |
| Icterícia | 15 | 3,1 |

4.2 - Avaliação macroscópica

Na pele, áreas hemorrágicas se infiltravam em forma de cunha até a derme profunda. Havia conteúdo purulento discreto particularmente evidente após desprendimento das crostas de casos crônicos de SDNS.

As artrites apresentaram diferentes exsudatos, variando de consistência fluída até grandes moldes organizados. A coloração do conteúdo variou de amarelo claro até levemente esverdeada. Nos casos de bursite (Figura 9), o conteúdo era frequentemente seroso translúcido, mas em alguns casos era exsudato purulento. As bursites, com localização externa à cápsula articular e considerável mobilidade no tecido subcutâneo foram alterações articulares frequentes.



Figura 9 - Suíno. Circovirose. Membro anterior. Bursite; punção de líquido seroso translúcido na região do carpo.

O espessamento e o aumento de volume tonsilares com evidenciação do padrão das criptas eram comuns. Necrose multifocal com escasso exsudato purulento na superfície epitelial também foi observada.

A avaliação dentária foi efetuada em 280 animais, dos quais 58 apresentaram pelo menos um abscesso dentário. Em alguns casos os abscessos se estendiam ao subcutâneo mandibular e maxilar. Placas pseudomembranasas amarelo-brancacentas foram observadas

na superfície da língua, boca, esôfago (Figuras 10 e 11) e porção aglandular do estômago de 19 animais.



Figura 10 - Suíno. Boca e língua. Circovirose. Candidíase mucocutânea; lesões ulcerativas e placas amareladas.

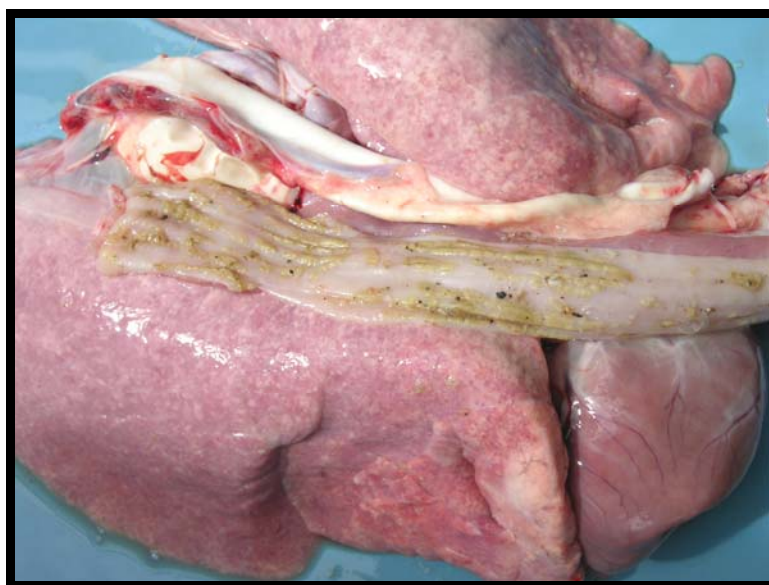


Figura 11 - Suíno. Circovirose. Esôfago torácico; pseudomembranas amareladas nos terços distais.

Hiperqueratose do esôfago torácico foi observada principalmente nos terços médio e distal.

Os linfonodos apresentavam aumentos moderados de volume (Figura 12), edema gelatinoso e evidência do padrão de vasos linfáticos associados. Ao corte, havia protusão das porções internas e derramamento de líquido incolor ou levemente citrino.



Figura 12 - Suíno. Circovirose. Linfonodos inguinais; linfadenomegalia moderada.

Em 38 casos, os linfonodos estavam muito aumentados de volume, com hemorragias de distribuição multifocal a coalescente e aspecto nodular. A superfície de corte era brancacenta, seca (Figura 13) e com abscessos focais esporádicos.

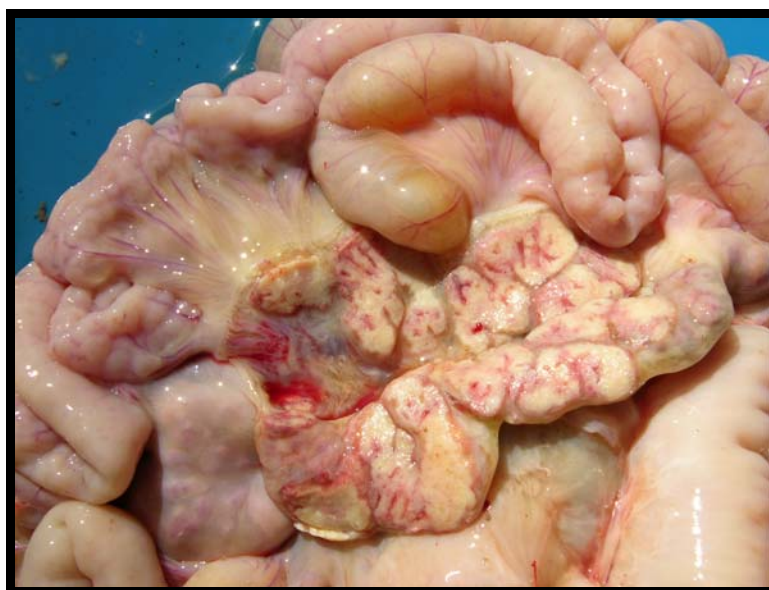


Figura 13 - Suíno. Linfonodo mesentérico. Circovirose. Regiões brancacentas multifocais e coalescentes.

Linfonodos com volume diminuído foram raros, especialmente alguns inguinais e mesentéricos. Edema acentuado de mesentério acompanhou os casos de linfonodos mesentéricos diminuídos. Extensas áreas avermelhadas com aumento acentuado de volume foram observadas em linfonodos periféricos e associadas com casos da SDNS (Figura 14).



Figura 14 - Suíno. Linfonodo inguinal. Síndrome de dermatite nefropatia. Aumento de volume e avermelhamento acentuados.

A superfície capsular dos linfonodos periféricos estava freqüentemente com coloração amarelo-acastanhada.

Esplenomegalia moderada foi um achado comum e o aumento acentuado foi observado em 7 animais, tendo também sido relacionado com a SDNS (Figura 15).

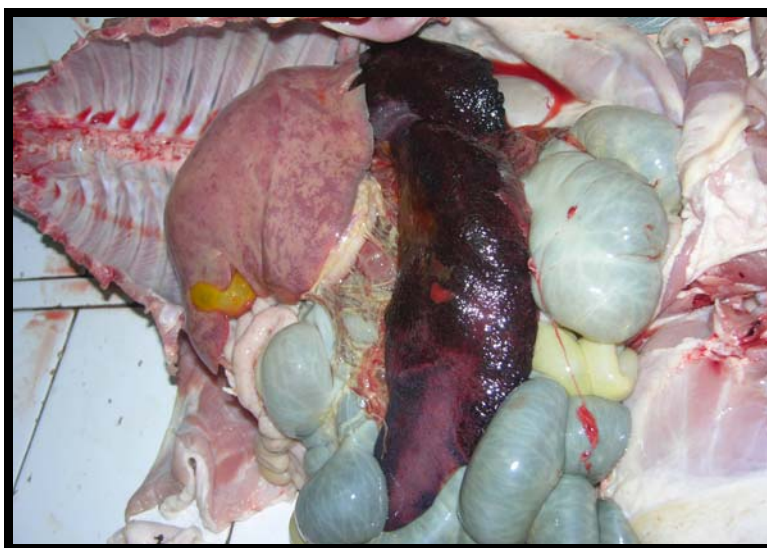


Figura 15 - Suíno. Baço. Circovirose. Esplenomegalia acentuada com infarto e escurecimento difuso.

Infartos focais nos pólos e bordos esplênicos (Figura 16), por vezes, causaram atrofia do parênquima e aderências de omento com formação de camada branca delgada e amarelada de material necrótico (Figura 17). Em três casos foi constatado infarto generalizado.



Figura 16 - Suíno. Baço. Circovirose. Infarto focal com aumento do relevo e margem hiperêmica.



Figura 17 - Suíno. Baço. Circovirose. Diminuição de volume, aderência de omento, irregularidade do parênquima e amarelamento difuso.

Hiperplasia macroscópica evidenciando os centros linfóides e configurando o aspecto de “baço em sagu” foi também constatada. Ao corte notava-se a protusão da polpa escura sobre a cápsula.

Hiperqueratose do quadrilátero esofágico com coloração amarelada foi o achado mais comum no estômago. Ulcerações dessa porção variaram de grau leve a acentuado e,

em alguns casos crônicos havia fibrose com ausência de epitélio de revestimento e depressão (Figura 18).



Figura 18 - Suíno. Estômago. Circovirose. Ulceração crônica, depressão acentuada do quadrilátero esofágico, e fibrose acentuada.

Pontos brancos, salientes e multifocais de 3-5mm (máximo) de diâmetro foram constatados em poucos casos na região glandular do estômago. Pseudomembranas amareladas observadas ao mesmo tempo na boca, língua, esôfago e estômago (Figura 19) ocorriam preferentemente em animais de um mesmo lote.

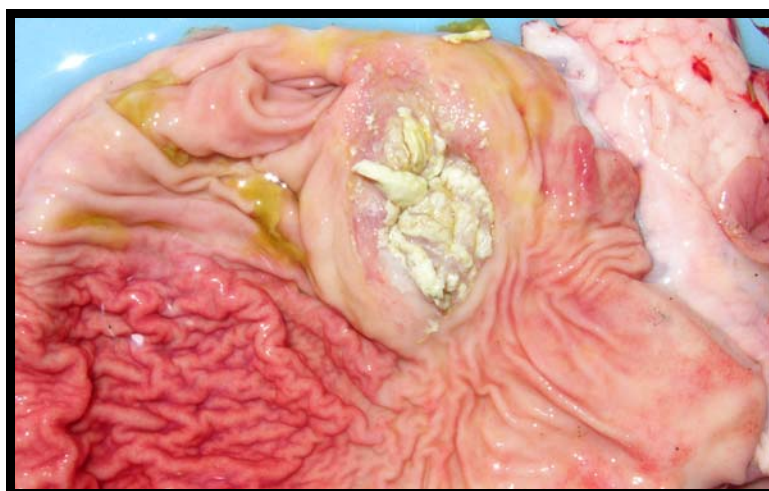


Figura 19 - Suíno. Circovirose. Candidíase muco-cutânea. Estômago; formação de pseudomembrana e ulceração na região do quadrilátero esofágico;

Jejuno e íleo apresentaram aspecto opalescente e reticular, e, em alguns casos, congestão vascular (Figura 20). Evidenciação de vasos linfáticos e edema de serosa foram acompanhados de edema de mesentério. Usualmente não havia conteúdo intestinal, mas quando presente era frequentemente líquido ou pastoso e amarelado. O aumento das placas de Peyer acompanhava o aumento dos nódulos linfáticos, mas, às vezes, se apresentavam deprimidas e/ou ulceradas (Figura 21). Deposição de material fibrino-necrótico foi evidente nos casos de enterite.



Figura 20 - Suíno. Circovirose. Intestino delgado; aspecto leitoso da serosa, retenção de linfa e evidência vascular.

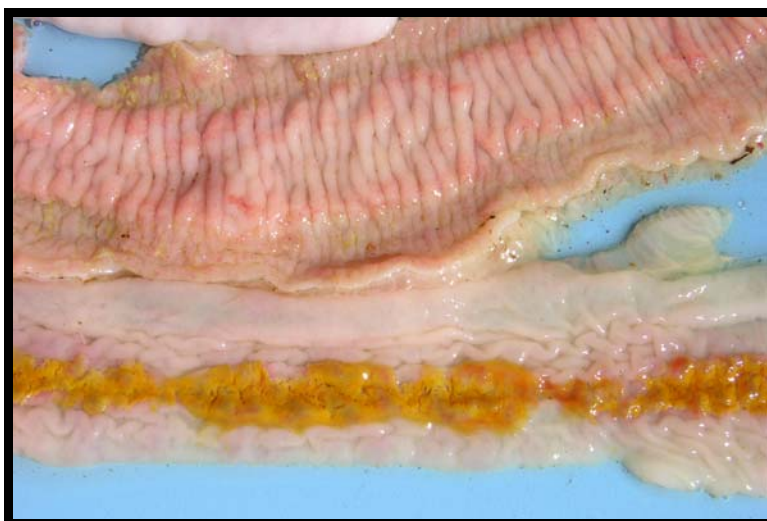


Figura 21- Suíno. Circovirose. Intestino delgado. Placas de Peyer. Acima; hiperplasia e congestão. Abaixo: deposição de material fibrino-necrótico.

Evidenciação dos agregados linfóides era visualizado como pontos brancos salientes na serosa e distribuídos multifocalmente. Em 39 casos, havia acentuado edema de cólon espiral, com coloração clara ou amarelada (Figura 22). Nesses casos, focos fibrino-necróticos amarelados ou necrose difusa da mucosa do cólon (Figura 23) foram observados e, em alguns casos, acompanharam ulcerações multifocais que atingiam inclusive a serosa intestinal. Flocos e moldes de fibrina também foram observados. Quando havia conteúdo retal, este era líquido ou levemente pastoso, como no restante de todo trato intestinal.



Figura 22 - Suíno. Circovirose. Cólon; edema de mesocólon e ulceração necrótica.



Figura 23 - Suíno. Circovirose. Cólon; colite fibrino-necrótica multifocal.

As principais alterações hepáticas macroscópicas foram manchas avermelhadas multifocais, difusamente distribuídas pela superfície capsular e de corte, conferindo à víscera um aspecto “moteado” (Figura 24). Icterícia difusa (Figura 25) usualmente acompanhada de diminuição de volume do órgão e irregularidade da superfície capsular foi observada em 26 casos. Congestão e aspecto de noz moscada foram frequentes, sendo que esta alteração estava sempre associada com pericardite fibrino-purulenta ou defeitos congênitos do coração.



Figura 24 - Suíno. Circovirose. Fígado; manchas avermelhadas multifocais difusamente distribuídas.



Figura 25 - Suíno. Circovirose. Fígado; icterícia e diminuição do parênquima (direita) em comparação com a víscera controle (esquerda).

Colorações pálidas e amareladas foram achados renais comuns. Aumento de volume e edema periférico também foram observados. Pontos brancos multifocais (Fig.

26) e/ou coalescentes, conferindo à superfície cortical um aspecto pontilhado foram detectados em aproximadamente 26% dos casos. Essas áreas brancas confluíam radialmente para a região medular e conferiam à região cortical um aspecto estriado (Figura 27).

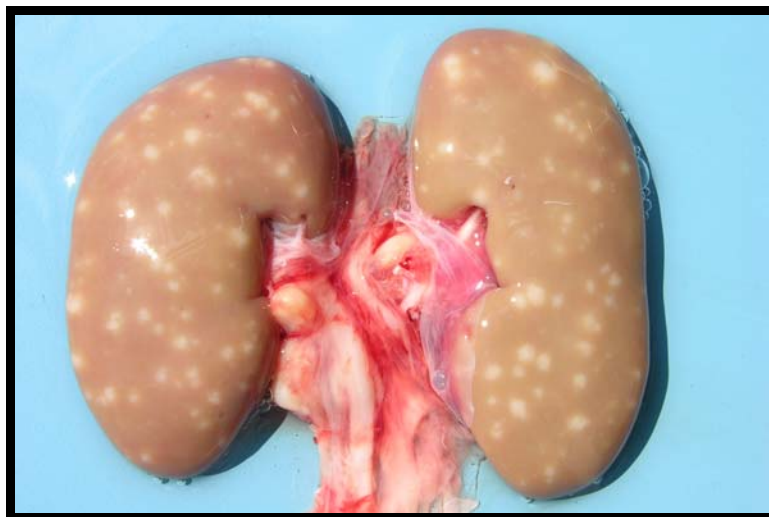


Figura 26 - Suíno. Circovirose. Rins; pontos brancos multifocais.



Figura 27 - Suíno. Circovirose. Rim; estrias radiais brancas na região cortical.

Aumento do volume renal (Figura 28) com pequenos pontos vermelhos difusamente distribuídos pela superfície renal e na região cortical (Figura 29) foi um achado comum, principalmente em animais com a SDNS. Grande volume de líquido

citrino, por vezes amarelado, fluía pela superfície de corte. Dilatação moderada da pelve usualmente acompanhava essa alteração.

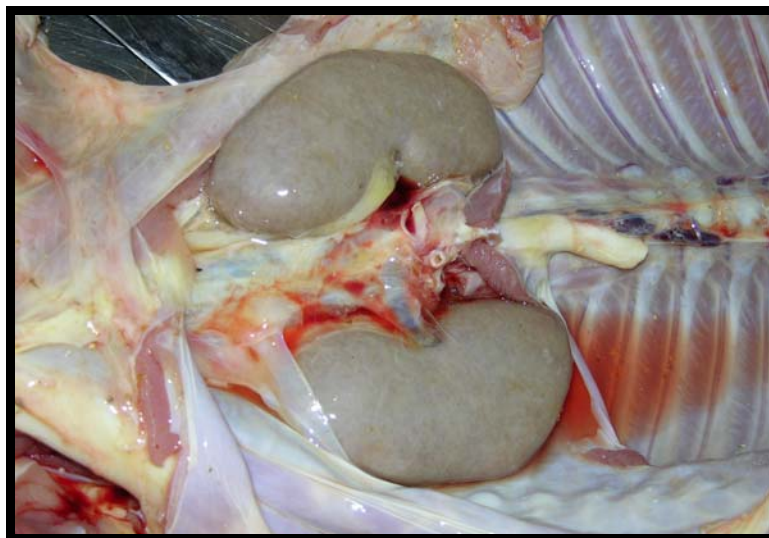


Figura 28 - Suíno. Circovirose. Rins; aumento de volume, palidez e irregularidade da superfície cortical.

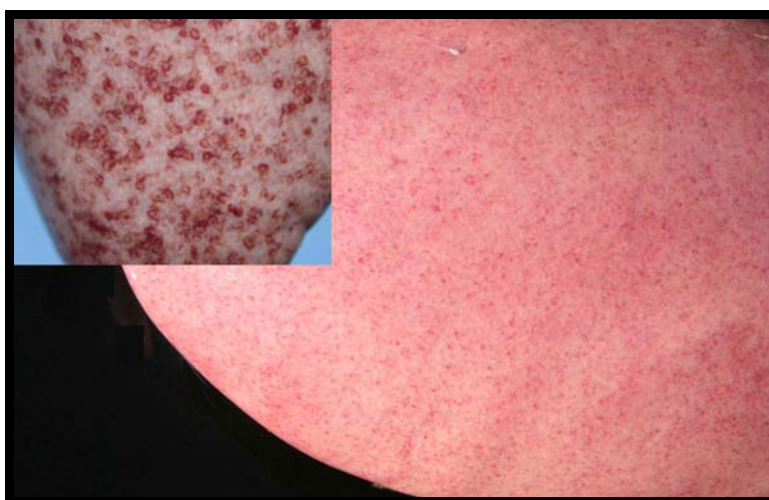


Figura 29 - Suíno. Síndrome de dermatite nefropatia suína. Rim; pontos vermelhos na superfície cortical. No detalhe; outro caso acentuado da mesma alteração.

Embora facilmente visualizável durante a abertura da cavidade torácica, em alguns casos, o timo estava ausente ou com tamanho muito reduzido.

O não colabamento pulmonar (“pulmão armado”) foi um achado constante e, muitas vezes, foi acompanhando de moderada consolidação crânio-ventral e edema interlobular de coloração citrina-amarelada (Figura 30). Abscessos miliares multifocais e

abscessos únicos pulmonares também foram encontrados. Aderências pleurais e pleurite, muitas vezes com presença de fibrina na cavidade, foram achados comuns e associados com infecções bacterianas secundárias.

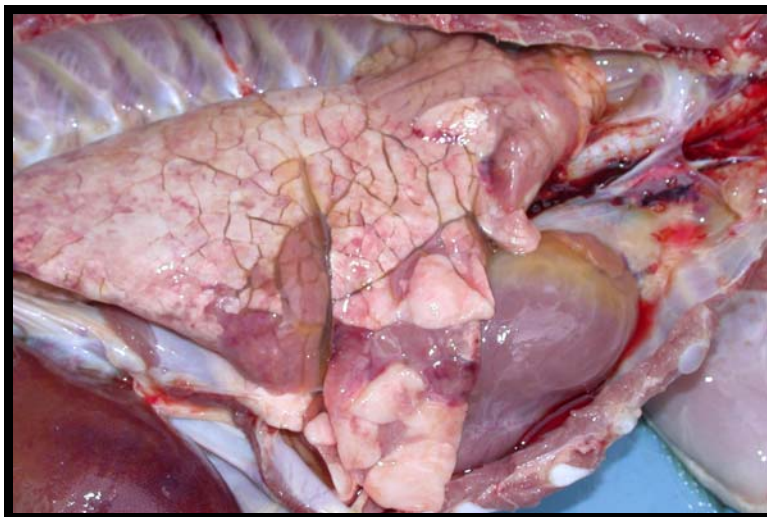


Figura 30 - Suíno. Circovirose. Pulmão; não colabamento, consolidações crânio-ventrais e edema interlobular.

Hidropericárdio de coloração citrina ou amarelada, acompanhado de atrofia serosa da gordura cardíaca (Fig.31) foram alterações freqüentes. Aderências de saco pericárdico e pericardite fibrino-purulenta também foram achados habituais (Figura 32).



Figura 31 - Suíno. Circovirose. Coração; atrofia serosa da gordura.



Figura 32 - Suíno. Circovirose. Coração; pericardite fibrino-purulenta.

Congestão moderada dos vasos do córtex cerebral e cerebelo foi o achado mais freqüente no sistema nervoso. Edema com deposição de fibrina superficial foi observado em 11 casos e, às vezes, com herniação do cerebelo pelo forame magno. Em 8 casos, no cerebelo havia petéquias superficiais (Figura 33) nas meninges e superfície de corte (Figura 34). As principais lesões macroscópicas foram listadas na tabela 2.

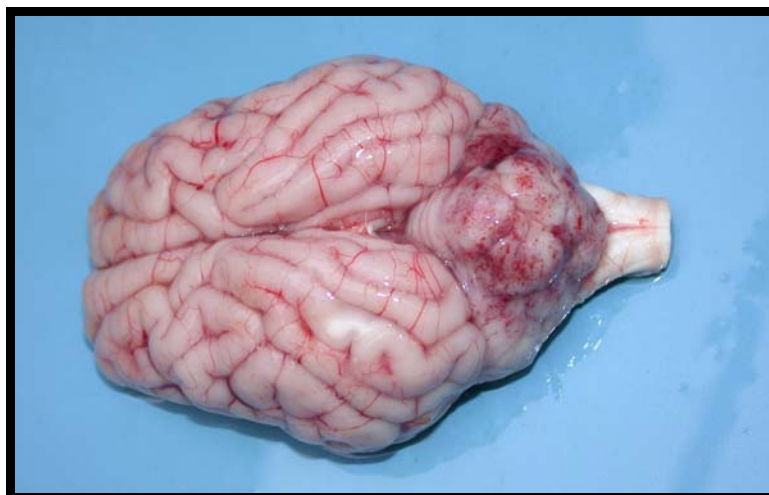


Figura 33 - Suíno. Circovirose. Cérebro e cerebelo; petéquias na superfície cerebelar.

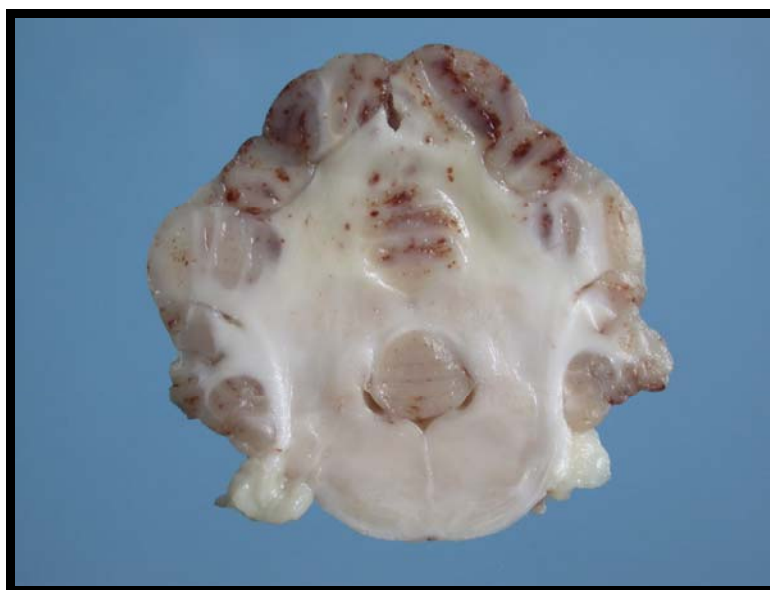


Figura 34 - Suíno. Circovirose. Secção transversal do cerebelo; hemorragias e amarelamento gelatinoso da substância branca na região superior.

Tabela 2 - Frequência das principais lesões macroscópicas observadas na necropsia de 523 suínos com circovirose.

| Alterações | Frequência | % |
|--|-------------------|----------|
| Linfoadenomegalia | 405 | 77,4 |
| Pulmão não colapsado (“armado”) | 266 | 50,8 |
| Consolidações pulmonares | 259 | 49,5 |
| Tonsilas aumentadas | 177 | 33,8 |
| Rins pálidos/amarelados | 175 | 33,4 |
| Esplenomegalia | 173 | 33,0 |
| Rins com pontos brancos | 138 | 26,3 |
| Hiperqueratose do quadrilátero esofágico | 124 | 23,7 |
| Ascite | 109 | 20,8 |
| Edema interlobular | 102 | 19,5 |
| Hidropericárdio | 95 | 18,1 |
| Fígado moteado | 91 | 17,3 |
| Hidrotórax | 75 | 14,3 |
| Úlcera estomacal | 67 | 12,8 |
| Aderências torácicas/fibrina | 61 | 11,6 |
| Aderências abdominais/fibrina | 59 | 11,2 |
| Bursites | 56 | 10,7 |
| Edema mesentério/mesocólon | 56 | 10,7 |
| Ulceração da mucosa intestinal | 47 | 8,9 |
| Aumento de volume renal | 46 | 8,7 |
| Crosta na pele | 42 | 8,0 |
| Artrites | 38 | 7,2 |
| Infarto de linfonodo | 38 | 7,2 |
| Sistema nervoso congestão | 38 | 7,2 |
| Pericardite | 36 | 6,8 |
| Rins com pontos vermelhos | 30 | 5,7 |
| Fígado amarelado | 26 | 4,9 |
| Placas amareladas boca/esôfago/estômago | 19 | 3,6 |
| Infarto esplênico | 18 | 3,4 |
| Sistema nervoso edema | 15 | 2,8 |
| Sistema nervoso petéquias | 14 | 2,6 |
| Otite purulenta | 9 | 1,7 |

4.3 - Avaliação microscópica

Pele

Havia dermatite hemorrágica com vasculite necrosante na derme superficial (Figura 35) e necrose fibrinóide das arteríolas com neutrófilos associados na derme profunda nos casos de SDNS. Pústulas intra-epidérmicas foram observadas em alguns cortes. Hemorragia e edema foram visualizados na derme profunda. O infiltrado misto dermal era composto predominantemente por infiltrado plasmocitário, neutrofílico e linfocitário. Esse infiltrado foi mais intenso em torno dos vasos, mas também se estendia de forma difusa pela derme e áreas hemorrágicas adjacentes. Nos casos mais crônicos, necrose foi observada na derme e epiderme. As crostas superficiais eram compostas por queratina e restos celulares necróticos.

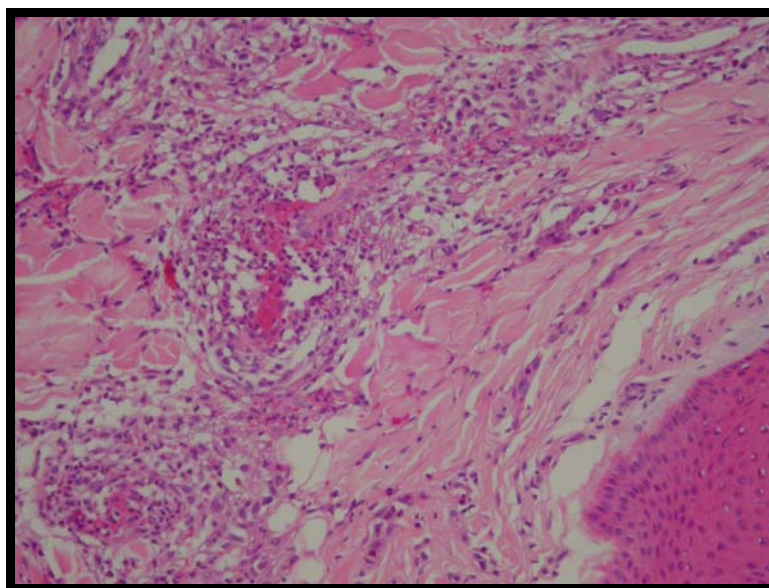


Figura 35 - Suíno. Síndrome de dermatite e nefropatia. Derme; vasculite com infiltrado inflamatório misto (Obj. 20, HE).

Tonsila

Depleção linfóide com infiltrado linfoistiocitário difuso, variando de moderado a acentuado foi o achado mais comum. Nos animais mais jovens, esse infiltrado era mais facilmente visualizado nos centros linfóides. Corpúsculos de inclusão e/ou células gigantes foram também observados com regularidade. Outras lesões freqüentes foram os abscessos

de criptas e fibrose difusa acentuada com ausência de centros linfóides. Casos de hiperplasia linfóide também foram verificados, mas em menor número.

Cavidade oral e esôfago

Nos casos onde o esôfago e a língua apresentavam placas pseudomembranasas amareladas, o epitélio pavimentar da língua continha ulceração focalmente extensa, necrose e infiltrado supurativo. Ulceração também foi observada na mucosa do esôfago. Essas lesões estavam associadas com leveduras e pseudo-hifas PAS positivas (Figura 36). Hiperqueratose, variando de leve a acentuada, foi verificada mais comumente nas secções dos terços distais do esôfago.

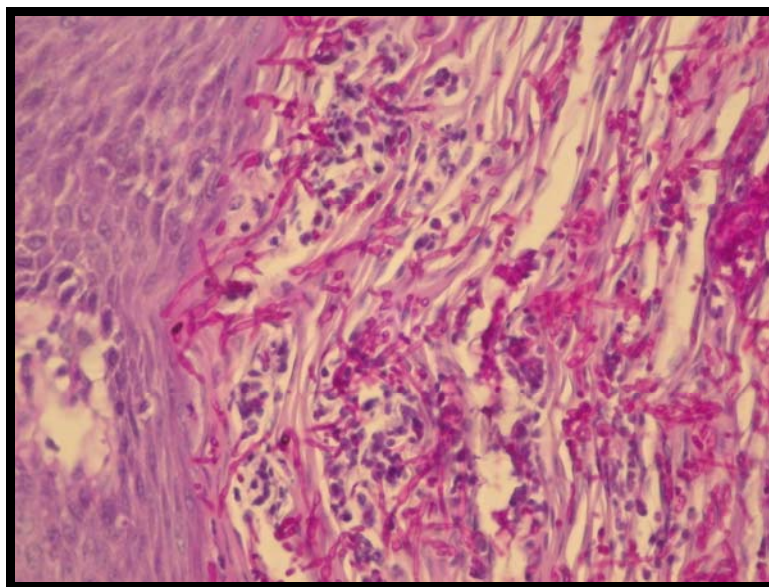


Figura 36 - Suíno. Circovirose. Esôfago; necrose do epitélio, infiltrado inflamatório purulento e presença de pseudo-hifas PAS positivas (Obj. 40, PAS).

Linfonodo

Edema subcapsular e dilatação de vasos linfáticos periféricos foram achados comuns. Hiperplasia linfóide foi observada em 99 casos. Nos animais mais jovens e com sinais iniciais de SRM, o infiltrado linfóide era predominantemente centrofolicular (Figura 37). Em outros casos, havia depleção centrofolicular mais severa com corpúsculos de inclusão e/ou células gigantes mais frequentes (Figura 38). Entretanto, a presença em um mesmo corte de células gigantes e/ou corpúsculos de inclusão, bem

como de corpúsculos de inclusão dentro de células gigantes foram achados menos freqüentes.

Grandes quantidades de corpúsculos de inclusão foram vistas nos centros foliculares e arredores, mas também podiam ser observados, embora que em menor quantidade, difusamente distribuídos. As células gigantes eram mais comuns na periferia centrofolicular que apresentava arquitetura bastante comprometida. Porém, em alguns casos, as células gigantes foram observadas na região correspondente aos folículos linfóides. Perda completa da arquitetura folicular e infiltrado linfoistiocitário difuso com variados graus de intensidade ocorriam nos casos mais crônicos da doença. Fibrose difusa e hiperplasia retículo-endotelial com perda da arquitetura folicular foram verificadas em alguns casos. Necrose coagulativa focalmente extensa com fibrina e infiltrado neutrofilico foram observados nos casos de aumento acentuado da víscera e normalmente eram acompanhados por hemorragia em diversos graus. Trombose, degeneração vascular e vasculite acompanhavam essa alteração.

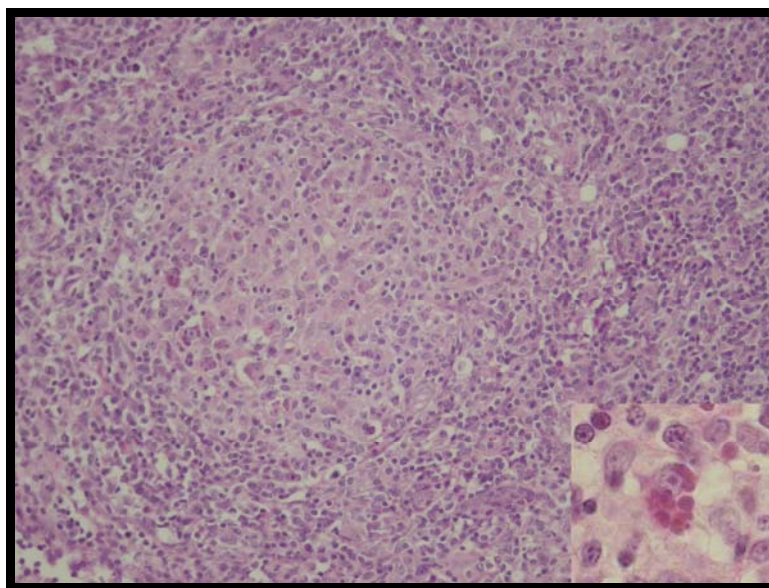


Figura 37 - Suíno. Circovirose. Linfonodo; infiltrado histiocitário centrofolicular (Obj. 10, HE). No detalhe; inclusões intracitoplasmáticas em forma de cacho de uva (Obj. 20, HE)

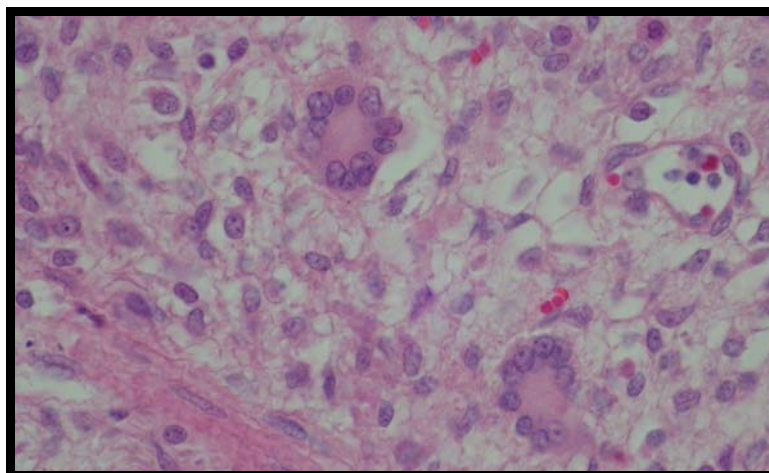


Figura 38 - Suíno. Circovirose. Linfonodo; Depleção linfóide, edema e células gigantes (Obj. 40, HE).

Baço

Infiltrado linfoistiocitário difuso moderado, acompanhado de depleção linfóide foi o achado mais freqüente. Necrose coagulativa foi observada em 23 casos, e correspondia a áreas de infarto. Normalmente, mas não somente nesses casos, essa lesão era acompanhada por degeneração vascular e vasculite (Figura 39). Deposição de tecido fibroso com considerável quantidade de debris necróticos, hemossiderina e aderências de omento apresentavam-se como resolução da alteração isquêmica.

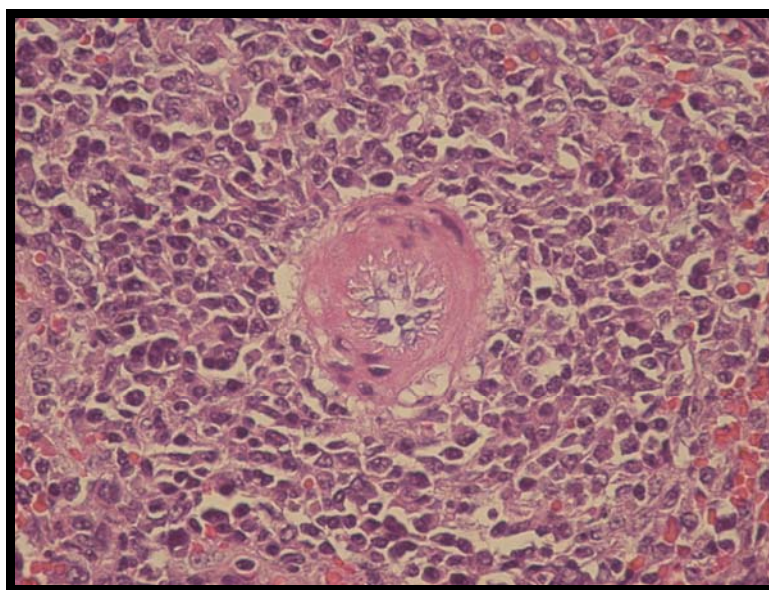


Figura 39 - Suíno. Circovirose. Baço; degeneração fibrinóide da artéria centrofolicular (Obj. 40, HE).

Estômago

Hiperqueratose, em diversos graus de intensidade, foi a principal alteração. Ulceração, edema da submucosa e fibrose foram outras alterações comuns e normalmente eram acompanhadas de infiltrado inflamatório misto e grumos bacterianos. Todas essas alterações ocorriam na região do quadrilátero esofágico. Pseudo-hifas PAS positivas foram vistas nos casos com pseudomembranas amareladas. Os pontos brancos salientes na mucosa, relatados na região glandular, eram compostos por infiltrado linfocitário e foram considerados hiperplasia de agregados linfóides.

Intestino delgado

Hiperplasia das placas de Peyer com depleção linfocitária e infiltrado linfoistiocitário, às vezes contendo corpúsculos de inclusão e/ou células gigantes, foram os achados mais frequentes. Os padrões de distribuição das células gigantes e corpúsculos de inclusão foram semelhantes ao descrito nos linfonodos. Infiltrado linfoistiocitário de intensidade variável foi visto na mucosa e submucosa. Dilatação de vasos linfáticos (Figura 40), na mucosa e submucosa, freqüentemente acompanhada de edema, também foi um achado comum. Enterite fibrinonecrótica, localizada principalmente nas regiões anti-mesentéricas, correspondentes às placas de Peyer, foi observada em 5 animais. Linfangite mista acompanhada de acentuado edema de mesentério e serosa intestinal foram infreqüentes.

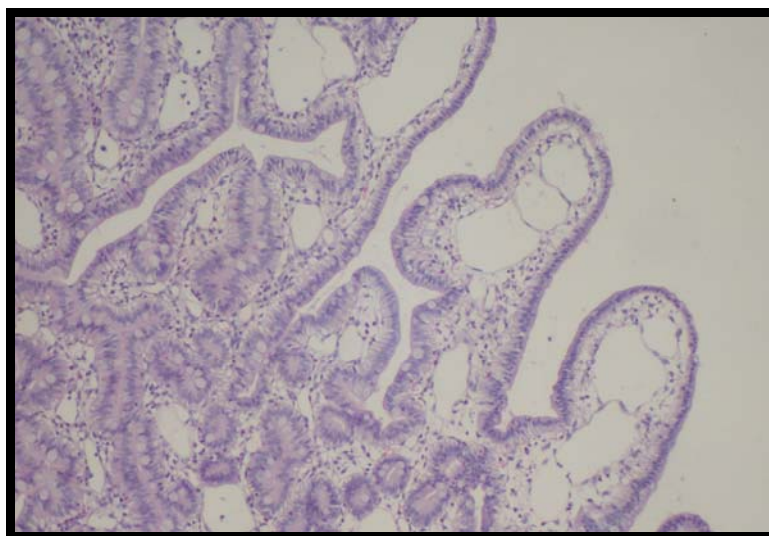


Figura 40 - Suíno. Circovirose. Íleo; dilatação dos vasos linfáticos nas vilosidades (Obj. 10, HE).

Intestino grosso

Enterite linfocitocitária leve foi o achado principal. Colite fibrinonecrótica com infiltrado misto e grumos bacterianos na superfície ulcerada foram vistos nos casos com correspondente lesão macroscópica (Figura 41). Edema de mucosa e submucosa foram acompanhados por diferentes graus de dilatação de vasos linfáticos.

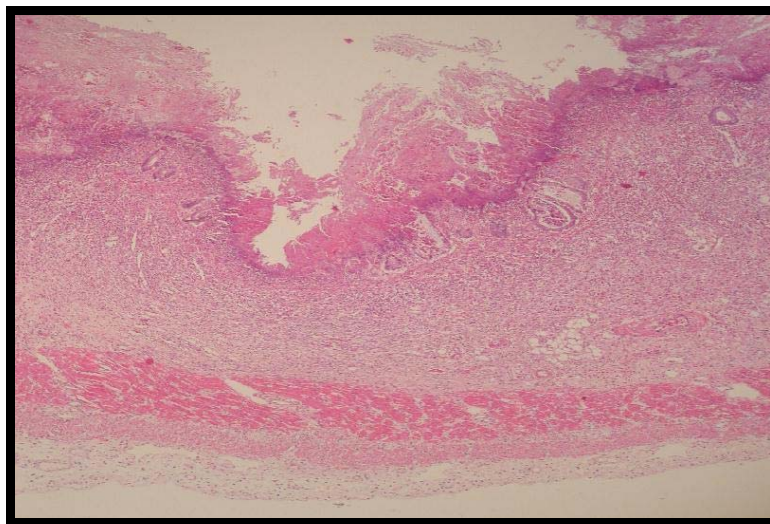


Figura 41 - Suíno. Circovirose. Cólon; enterite fibrinonecrótica (Obj. 4, HE).

Fígado

A alteração mais comum foi visualizada na região periportal e consistia de infiltrado mononuclear, variando de leve a moderado. Necrose individual de hepatócitos com megalocitose, picnose nuclear e cariorrexis foram observadas nos casos de hepatite mononuclear difusa (Figura 42). Glóbulos eosinofílicos (corpos apoptóticos) foram encontrados na proporção direta das alterações macroscópicas descritas, ou seja, quanto mais atrofiado era o parênquima, maior quantidade de glóbulos eosinofílicos era observada. Retenção biliar e proliferação de ductos biliares também acompanhavam essas alterações.

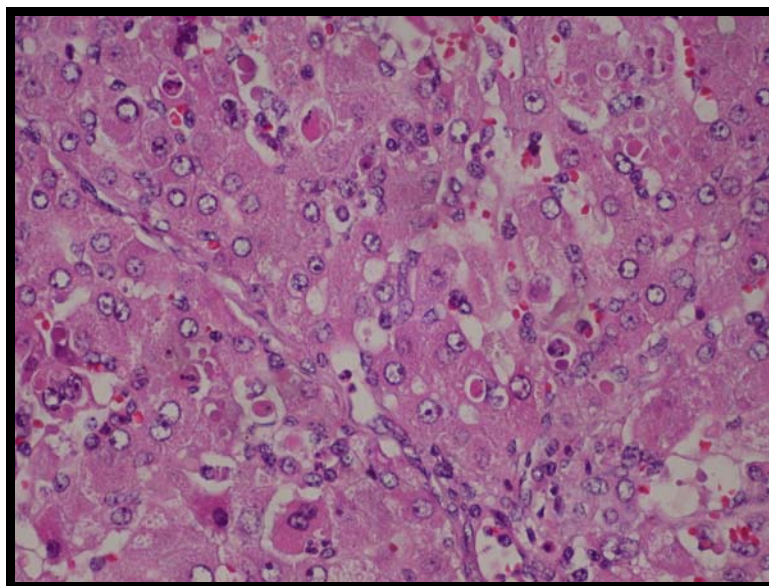


Figura 42 - Suíno. Circovirose. Fígado; infiltrado linfoistiocitário, necrose individual de hepatócitos, picnose nuclear e corpos eosinofílicos (Obj. 40, HE).

Rins

Nefrite intersticial multifocal linfoistiocitária (Figura 43), algumas vezes com células gigantes, dilatação e descamação do epitélio tubular foram achados constantes em casos de SRM. Especialmente nos casos de SDNS, glomerulite fibrino-exsudativa, com presença de infiltrado neutrofílico, necrose dos tufo glomerulares e retenção de líquido proteináceo na cápsula de Bowman foram os principais achados (Figura 44). Quase todos os glomérulos foram afetados e, em alguns deles, havia fibrose. Esse achado normalmente era acompanhado de fibrose intensa, vasculite com hemorragia das artérias arciformes, dilatação de túbulos com retenção de líquido proteináceo e reabsorção de gotículas protéicas pelos túbulos da região cortical.

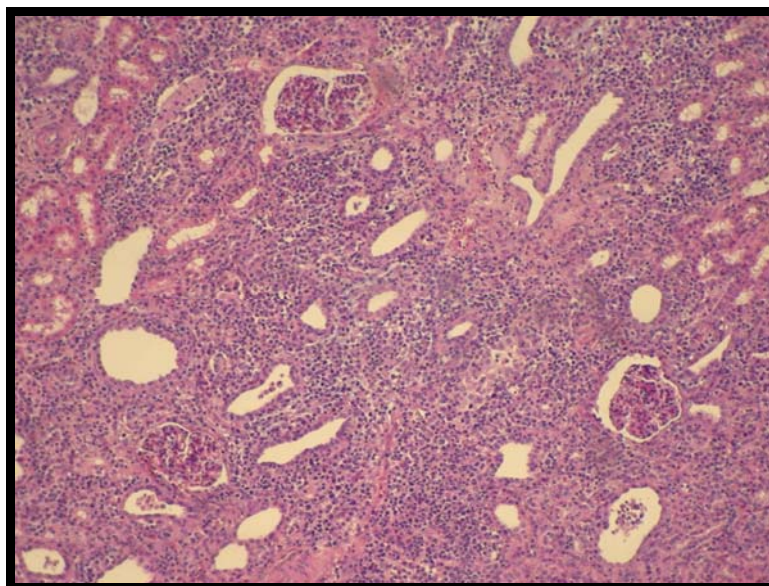


Figura 43 - Suíno. Circovirose. Rim; nefrite intersticial acentuada e dilatação de túbulos (Obj. 10, HE).

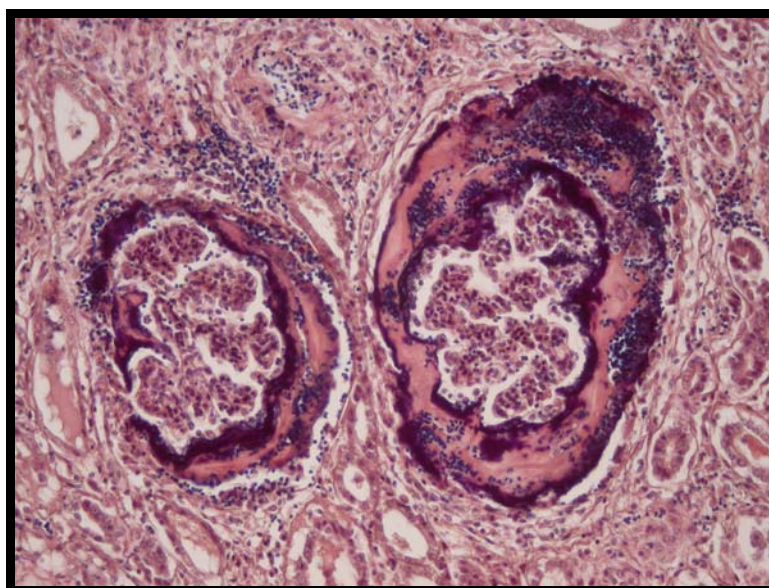


Figura 44 - Suíno. Síndrome de dermatite e nefropatia. Rim; glomerulite fibrino-exsudativa (Obj. 40, PTAH).

Timo

Mudanças na arquitetura foram observadas, incluindo o aumento do espaço perivascular e decréscimo da zona cortical. Substituição do parênquima por tecido adiposo e infiltrado linfocitário leve acompanhavam essa atrofia.

Pulmão

Pneumonia intersticial linfocitocitária moderada com edema interlobular acompanhados de broncopneumonia purulenta multifocal foram as principais alterações. Congestão e hemorragia e, algumas vezes, pleurite fibrinopurulenta acompanhavam essas alterações. Nestes casos, freqüentemente eram observadas grandes quantidades de macrófagos nos espaços alveolares. Hiperplasia dos tecidos linfóides associados aos bronquíolos também foi constatada em uma minoria dos casos. A presença de células gigantes não foi um achado freqüente (Figura 45).

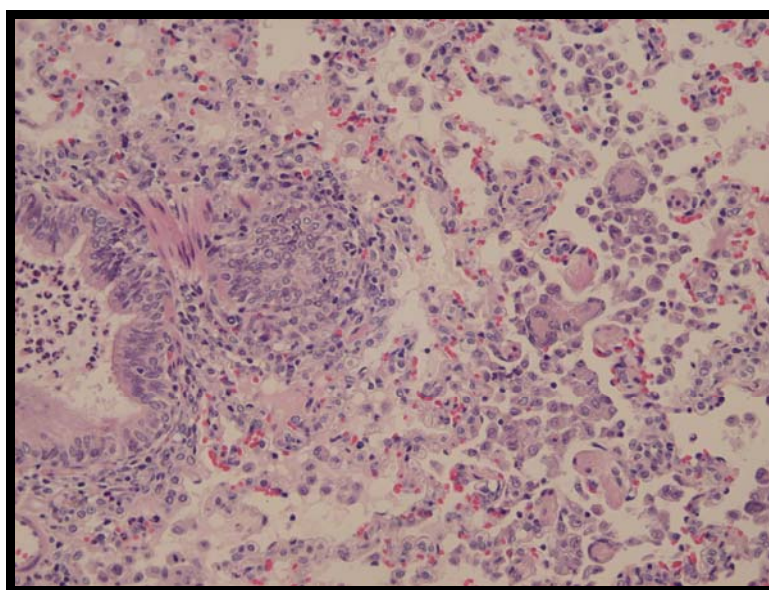


Figura 45 - Suíno. Circovirose. Pulmão; pneumonia intersticial com células gigantes e bronquiolite purulenta (Obj. 10, HE).

Coração

Pericardite fibrinopurulenta com grumos bacterianos foi verificada em 38 casos (Figura 46). Infiltrado mononuclear multifocal e fibrose do miocárdio também foram encontradas, mas em poucos casos.

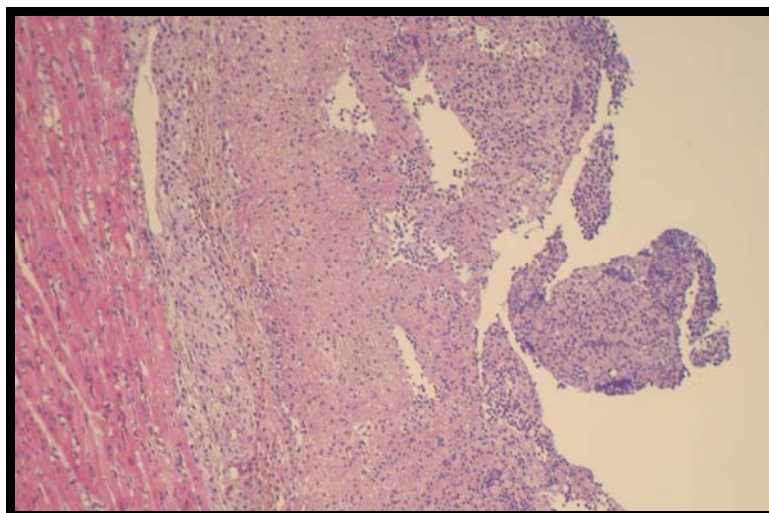


Figura 46 - Suíno. Circovirose. Coração; pericardite fibrino-purulenta com grumos bacterianos (Obj. 4, HE).

Sistema Nervoso

Meningoencefalite mononuclear e congestão foram as principais alterações. Em cinco casos, foram observadas meningite e vasculite mononuclear com edema e hemorragia adjacentes e inúmeros macrófagos contendo material proteináceo PAS positivo, em forma de glóbulos eosinofílicos. Essa vasculite foi observada em várias secções do encéfalo, mas foi mais intensa e freqüente no cerebelo (Figura 47). Meningoencefalite purulenta foi observada em 11 casos.

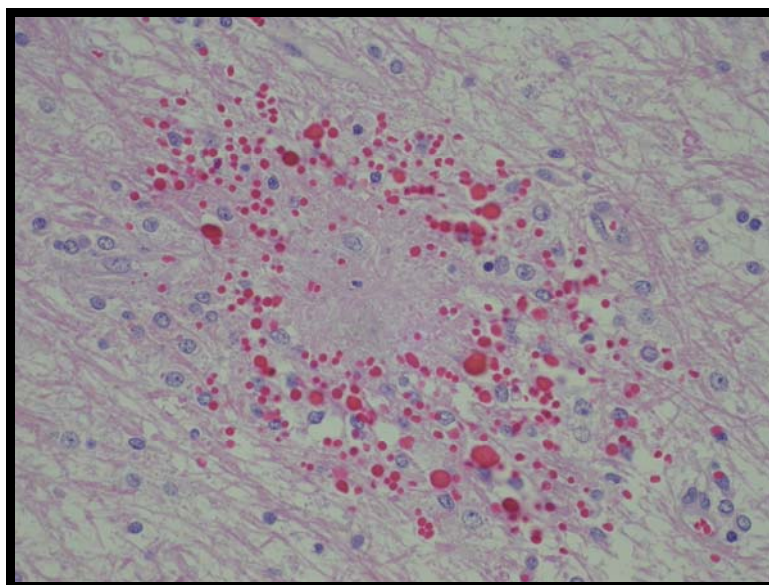


Figura 47 - Suíno. Circovirose. Cerebelo; edema e vasculite mononuclear com extravasamento de glóbulos eosinofílicos e hemácias (Obj. 40, HE).

As principais lesões microscópicas estão relacionadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Frequência das principais lesões microscópicas encontradas em 523 suínos com circovirose.

| Alteração/víscera | n | Frequência | % |
|-----------------------------------|----------|-------------------|----------|
| Linfonodos | 514 | | |
| Infiltrado linfoistiocitário | 459 | 89,2 | |
| Depleção centrofolicular | 302 | 58,7 | |
| Edema | 156 | 30,3 | |
| Dilatação de vasos linfáticos | 125 | 24,3 | |
| Células gigantes | 102 | 19,8 | |
| Hiperplasia centrofolicular | 99 | 19,2 | |
| Corpúsculos de inclusão | 84 | 16,3 | |
| Infiltrado eosinofílico | 75 | 14,5 | |
| Fibrose | 68 | 13,2 | |
| Infiltrado neutrofilico | 58 | 11,2 | |
| Necrose de coagulação | 37 | 7,1 | |
| Baço | 507 | | |
| Infiltrado linfoistiocitário | 398 | 78,5 | |
| Depleção centrofolicular | 320 | 63,1 | |
| Hiperplasia centrofolicular | 49 | 9,6 | |
| Células gigantes | 33 | 6,5 | |
| Necrose de coagulação | 23 | 4,5 | |
| Fígado | 511 | | |
| Hepatite portal mononuclear | 246 | 48,1 | |
| Necrose individual de hepatócitos | 84 | 16,4 | |
| Hepatite mononuclear difusa | 50 | 9,7 | |
| Glóbulos eosinofílicos | 18 | 3,5 | |
| Intestinos | 497 | | |
| Infiltrado linfoistiocitário | 374 | 75,2 | |
| Hiperplasia centrofolicular | 177 | 35,6 | |
| Dilatação de vasos linfáticos | 169 | 34,0 | |
| Edema | 156 | 31,3 | |
| Corpúsculos de inclusão | 71 | 14,2 | |
| Infiltrado eosinofílico | 60 | 12,0 | |
| Células gigantes | 49 | 9,8 | |
| Enterite necrótica | 47 | 9,4 | |
| Depleção centrofolicular | 33 | 6,6 | |
| Rim | 512 | | |
| Nefrite intersticial | 244 | 47,6 | |
| Dilatação de túbulos | 124 | 24,2 | |
| Descamação epitélio tubular | 54 | 10,5 | |
| Proteinúria | 48 | 9,3 | |
| Fibrose | 37 | 7,2 | |
| Glomerulite fibrino-exsudativa | 34 | 6,6 | |

| | | |
|--|-----|------|
| Células gigantes | 27 | 5,2 |
| Tonsila | 468 | |
| Infiltrado linfoistiocitário | 335 | 71,5 |
| Depleção centrofolicular | 243 | 51,9 |
| Abscessos de criptas | 122 | 26,0 |
| Hiperplasia centrofolicular | 57 | 12,1 |
| Corpúsculos de inclusão | 46 | 9,8 |
| Células gigantes | 43 | 9,1 |
| Infiltrado eosinofílico | 38 | 8,1 |
| Pulmão | 511 | |
| Pneumonia intersticial | 309 | 60,4 |
| Pneumonia broncointersticial purulenta | 158 | 30,9 |
| Edema intersticial/interlobular | 78 | 15,2 |
| Hiperplasia de agregados linfóides | 42 | 8,2 |
| Pleurite | 37 | 7,2 |
| Células gigantes | 15 | 2,9 |
| Coração | 502 | |
| Pericardite fibrinosa | 38 | 7,5 |
| Fibrose | 7 | 1,3 |
| Infiltrado mononuclear multifocal | 6 | 1,1 |
| Cérebro | 486 | |
| Congestão | 68 | 13,9 |
| Meningoencefalite mononuclear | 64 | 13,1 |
| Edema | 20 | 4,1 |
| Hemorragia | 15 | 3,0 |
| Meningoencefalite purulenta | 11 | 2,2 |
| Outras | 523 | |
| Cândida boca/esôfago/estômago | 19 | 3,6 |
| Dermatite necrótica e vasculite | 26 | 4,9 |

4.4 - Avaliação microbiológica

Em 27 (24,3%), dos 111 leitões com diarreia, foram isolados agentes bacterianos patogênicos. *Escherichia coli* foi o mais prevalente (9,9%). Quatro das 11 cepas de *E. coli* isoladas foram reagentes ao soro polivalente A. Bactérias do gênero *Salmonella* foram detectadas em 6,3% das amostras. Espiroquetas morfologicamente classificadas como pertencente ao gênero *Brachyspira* estiveram presentes em 9 (8,1%) casos. Finalmente, em 84 (75,67%) leitões com diarreia não foram isolados agentes bacterianos patogênicos. Entre esses, quatro apresentavam quadro de enterite necrótica no intestino delgado e 16 no intestino grosso. A frequência de agentes patogênicos identificados nas amostras dos 111 leitões com diarreia esta apresentada na tabela 4.

Tabela 4 - Agentes bacterianos de diarreia associados à circovirose suína.

| Agente | Frequência | |
|-------------------------|------------|--------|
| <i>Escherichia coli</i> | 11 | 9,9% |
| <i>Salmonella</i> | 7 | 6,3% |
| <i>Brachyspira</i> | 9 | 8,1% |
| Sem agente identificado | 84 | 75,7% |
| Total: | 111 | 100,0% |

4.5 - Avaliação imunoistoquímica

Linfonodo

As marcações foram evidenciadas em histiócitos e células gigantes principalmente nos centros foliculares dos linfonodos (Figura 48), mas também foram vistas em todas as regiões.

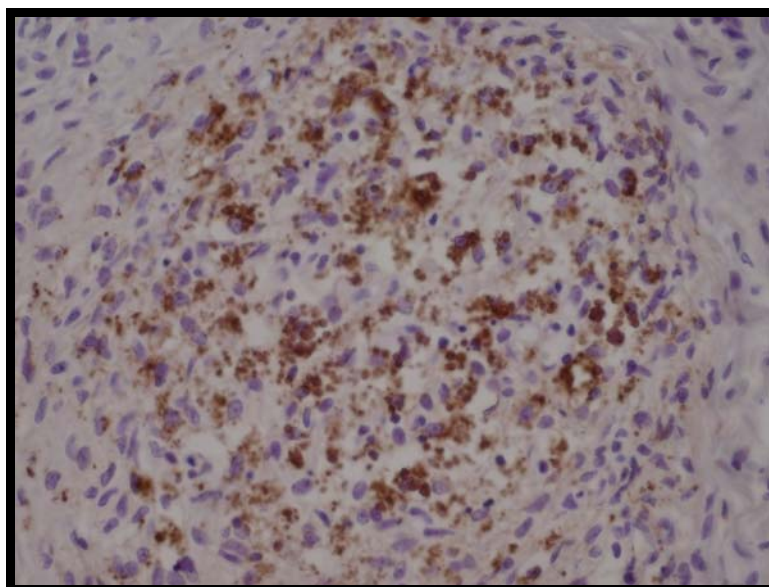


Figura 48 - Suíno. Circovirose. Linfonodo; marcação centrofolicular positiva em monócitos e histiócitos (Obj. 40, Imunoistoquímica).

Pulmão

As marcações mais evidentes foram no epitélio das glândulas peri-bronquiolares, tecido linfóide associado e macrófagos alveolares (Figura 49) espalhados por todo o parênquima pulmonar.

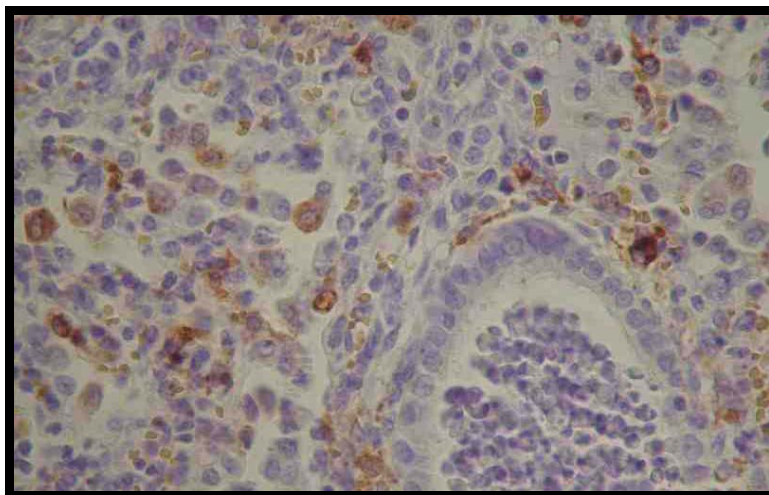


Figura 49 - Suíno. Circovirose. Pulmão; marcação positiva em macrófagos alveolares (Obj. 40, Imunoistoquímica).

Rim

Marcações positivas foram detectadas em monócitos e no epitélio tubular das alças de Henle e dos túbulos coletores (Figura 50). A marcação tubular era multifocal e comumente esses túbulos estavam dilatados e com epitélio descamando para a luz.

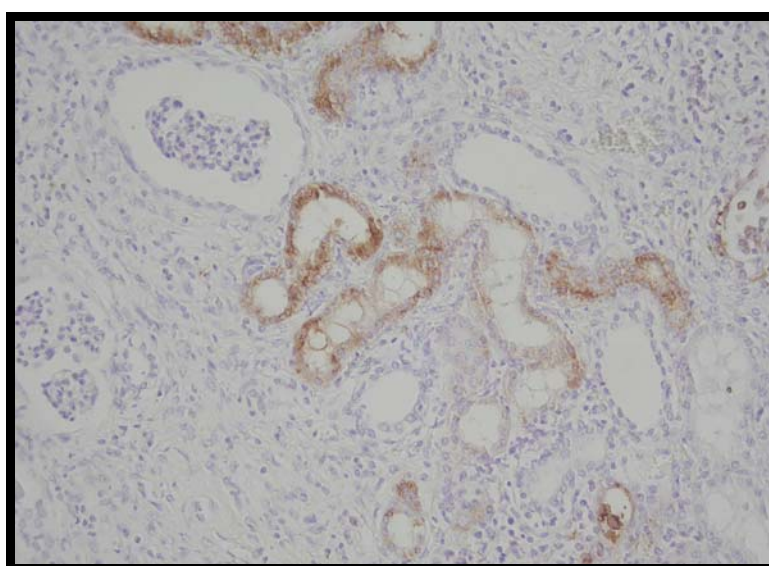


Figura 50 - Suíno. Circovirose. Rim; marcação positiva no epitélio das alças de Henle (Obj. 20, Imunoistoquímica).

Os resultados dos exames imunoistoquímicos realizados em 56 amostras de linfonodo, pulmão e rim estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5 - Resultado dos exames imunoistoquímicos de fragmentos de linfonodos, pulmões e rins de 56 casos de circovirose suína.

| Número de Casos | Positivos | Negativos | Marcação Positiva | | |
|-----------------|-----------|-----------|-------------------|--------|-------|
| | | | Linfonodo | Pulmão | Rim |
| 56 | 50 | 6 | 47 | 34 | 29 |
| | 89,2% | 10,7% | 83,9% | 60,7% | 51,7% |

5 – DISCUSSÃO

Os achados clínicos dos animais deste estudo foram semelhantes àqueles previamente descritos em suínos com circovirose (ALLAN & ELLIS, 2000; CLARK et al., 2004; CHAE, 2005). O emagrecimento, principal sinal clínico da doença, pode ter etiologia multifatorial e provavelmente está associado com o caráter multissistêmico da doença. Alterações intestinais, hepáticas e renais possivelmente têm participação importante nesse quadro de emagrecimento. A importância do PCV2 como agente causal de diarreia deve ser considerada em função dos achados microbiológicos e histopatológicos (CHAE, 2004; KIM et al., 2004). Sugere-se que a má absorção ocasionada pela linfangectasia e alterações circulatórias dos intestinos e linfonodos regionais possa causar diarreia. Esta hipótese pode ser reforçada pelas características das fezes fluidas, tais como alteração de coloração e odor inalterado, as quais são sugestivas de enterites não bacterianas e isolamento bacteriano negativo.

A imunodepressão causada pelo PCV2 tem sido associada com fator predisponente ou desencadeante de infecção bacteriana (SEGALÉS et al., 2004-b). A presença de *E. coli* nas categorias estudadas foi pouco comum, pois essa bactéria tem sido encontrada como causa de diarreia em leitões nas fases de maternidade e creche (SOJKA, 1965). Sete das 11 cepas não reagiram a nenhum dos soros testados, o que pode indicar a emergência de novas cepas da bactéria em nosso meio. Exames para a determinação dos fatores de virulência (fímbrias e toxinas) estão sendo conduzidos e poderão contribuir para o entendimento da patogenia da infecção nessa idade mais tardia. *Salmonella* spp. é causa rara de diarreia em leitões com defesas imunes normais, mas pode causar formas de enterocolite ou septicemia em leitões fracos ou imunodeprimidos. Entretanto, não foram realizados exames para detectar *Lawsonia Intracellularis*, um dos agentes de diarreia mais prevalentes na faixa etária a que pertenciam os leitões amostrados (McORIST & GEBHART, 1999). Exames de imunoistoquímica estão sendo realizados e possivelmente indiquem um percentual maior de animais com infecção bacteriana associada ao quadro de diarreia. Agentes bacterianos estiveram ausentes na maioria dos suínos com diarreia, reforçando a hipótese de envolvimento do PCV2.

A palidez de carcaça foi consistentemente relacionada com úlcera gástrica e ascite, hidrotórax e hidropericárdio são fortes indícios de hipoproteinemia conseqüente à lesão hepática e má absorção de nutrientes.

Diarréia refratária à terapia antimicrobiana tem sido frequentemente descrita em SRM (SEGALÉS et al., 1997; HARDING et al., 1998). A associação deste quadro clínico com alterações tais como linfangectasia e infiltrado granulomatoso são achados caracteristicamente descritos na doença de Johne (DRIEMEIER et al., 1999). Embora esses achados histopatológicos não tenham sido amplamente descritos em SRM, foram observados em muitos animais deste estudo. Apesar de causadas por agentes muito diferentes, certamente tais lesões estão associadas com o quadro de emagrecimento típico em ambas as enfermidades.

A icterícia generalizada da carcaça pode ser associada com a intensidade de lesão hepática (ROSELL et al., 2000), sendo mais acentuada nos casos em que foram observadas diminuição no tamanho, icterícia e irregularidade da superfície capsular hepáticas. A icterícia hepática também teve correlação com os achados histopatológicos de necrose individual de hepatócitos e presença de corpos apoptóticos. Avaliações imunoistoquímicas individuais de cortes hepáticos com essa mesma alteração histológica realizadas na rotina do SPV revelaram estreita correlação entre a intensidade de lesão e presença de PCV2. Infiltrado linfoistiocitário periportal foi o achado microscópico mais freqüente no fígado e a importância dessa alteração na patogenia das lesões hepáticas e a sua contribuição no emagrecimento progressivo ainda deve ser elucidada. As alterações hepáticas observadas foram previamente associadas com PCV2 (ROSELL et al., 2000) que pode ser incluído na lista de vírus que causam hepatite em suínos.

A associação da intensidade das alterações renais verificadas nos exame de IHQ com a idade dos animais sugere diferentes estágios de evolução. A descamação discreta do epitélio tubular, marcada positivamente na imunoistoquímica, era a única alteração nos casos iniciais. Subsequentemente, infiltrado linfoistiocitário preenchia o interstício renal e as marcações imunoistoquímicas eram mais proeminentes. Fibrose, esclerose glomerular, presença de edema e cilindros hialinos nos túbulos dilatados eram visualizadas nos animais mais velhos e com lesões macroscópicas de SRM menos evidentes. Nesse estágio, as marcações imunoistoquímicas eram quase ausentes (CHIANINI et al., 2003; BANDARRA et al., 2005). A hipoproteinemia de origem renal pode também estar associada com o quadro de desnutrição e perda de peso usualmente observado em animais infectados por

PCV2. Conforme sugere o nome, casos de SDNS usualmente associam lesões de pele com lesões renais (HÉLIE et al., 1995), entretanto em dois animais havia lesões renais características sem nenhuma lesão de pele e poderiam ser considerados casos atípicos de SDNS (SEGALÉS et al., 2004).

Estudos associando sinais clínicos neurológicos com a infecção pelo PCV2 em suínos desmamados têm sido relatados infrequentemente (CORRÊA et al., 2005). Entretanto, tais sinais têm sido relatados em neonatos com tremores congênitos tipo A2 (STEVENSON et al., 2001). Vasculite mononuclear associada com a presença do PCV2 (IHQ) em suínos com sintomatologia nervosa foi constatada neste estudo. Portanto, sinais nervosos em animais com SRM podem ser associados com PCV2. Considerando que vários animais apresentaram polisserosite, o isolamento bacteriano nesses casos de encefalite deve ser preconizado. Encefalite nessa faixa etária costuma ser causada por *Streptococcus suis* e *Haemophilus parasuis* (DEWEY, 1999).

Agentes virais como o da doença de Aujeszky, entre outros, não podem deixar de ser considerados, porém não têm sido descritos na nossa região. Sabendo que o PCV2 pode causar vasculite, a participação desse nas encefalites mononucleares encontradas não pode ser descartada. A associação de agentes virais e bacterianos também deve ser considerada na patogenia dessas alterações nervosas. Glóbulos eosinofílicos são associados com extravasamento protéico (KURTZ & QUAST, 1982) e são achados freqüentes em infecções por *E. coli* (KURTZ & SHORT, 1976). Tais angiopatias também foram constatadas em animais deste estudo nos quais PCV2 foi detectado (IHQ), mas *E. coli* não (CORRÊA et al., 2005). Portanto, sugere-se uma associação dessas lesões com a infecção por PCV2.

Devido à alta prevalência de abscessos dentários observada, sugere-se que possam ter ocorrido falhas no manejo do corte dos dentes desses animais. Sabe-se que a SRM causa imunodepressão (SEGALÉS et al., 2004-b), portanto, não podemos deixar de relacioná-la também com esse resultado. As infecções bacterianas oportunistas causadas por patógenos da microbiota fisiológica, que em animais sadios não conseguiriam se instalar com tanta facilidade, nesses suínos imunodeprimidos pelo PCV2 podem ter uma importância significativa. Estudos adicionais poderão avaliar essa correlação entre a SRM, patógenos ambientais e comensais e o alto índice de abscessos dentários.

A presença de PCV2 em linfonodos isolados tem sido associada com linfadenite necrótica (KIM & CHAE, 2005), entretanto antígenos virais foram detectados nos

linfonodos afetados e em outros órgãos concomitantemente. O mecanismo desta necrose poderia ser semelhante ao da necrose encontrada em tumorações de grande volume (CULLEN et al, 2002). A interrupção do fluxo sanguíneo devido ao aumento excessivo dos linfonodos, acúmulo de linfa e à trombose associada com lesão vascular podem causar anoxia e diminuição de aporte nutricional para o tecido linfático.

Pneumonia necrosante proliferativa tem sido frequentemente associada com infecção por PCV2 e com o complexo de doença respiratória suína (ELLIS et al., 1999-b), mas não foi observada nesses animais. Considerando que não há descrições dos vírus da síndrome reprodutiva e respiratória suína (PRRS) nem da influenza ou outros associados com o complexo de doença respiratória suína no Brasil, sugere-se que aquelas lesões possam não ter sido observadas pela ausência dos patógenos associados.

Miocardite multifocal tem sido descrita esporadicamente em suínos infectados por PCV2 (CLARK et al., 2004) e tais alterações foram vistas em apenas seis animais nesse estudo.

As comparações dos graus de intensidade e dos padrões das lesões observadas nos linfonodos com a intensidade das reações positivas vistas na imunoistoquímica possibilitaram observar associações entre a cronologia das alterações histopatológicas e a evolução da doença. Infiltrado linfoistiocitário e depleção dos centros foliculares associados com intensas marcações IHQ representam alterações iniciais da doença e perda da arquitetura folicular com infiltrado linfoistiocitário difuso com células gigantes, associados com escassas e difusas marcações IHQ ocorrem nos casos crônicos da doença.

Estudos epidemiológicos sobre a infecção pelo PCV2 ainda devem ser efetuados, no entanto a grande quantidade de animais afetados demonstra que a prevalência da doença em nosso meio é alta.

6 – CONCLUSÕES

A circovirose é doença multissistêmica e afeta suínos de 2- 4 meses.

As lesões de pele estão associadas com a presença de glomerulonefrite fibrino-exsudativa.

As alterações histopatológicas são de doença granulomatosa que afeta principalmente os órgãos linfóides.

As inclusões virais ocorrem nos órgãos linfóides em aproximadamente 15% dos casos.

Outras doenças tais como a candidíase muco-cutânea foram encontradas em associação com a circovirose e indicam um caráter imunodepressivo desta infecção viral.

Os infiltrados linfoistiocitários em linfonodos foram responsáveis linfangectasia na mucosa intestinal.

O vírus está consistentemente envolvido com as lesões e sua detecção é proporcional à quantidade de lesões encontrada nos órgãos linfóides.

Linfonodos mesentéricos mais aumentados de volume estão associados com necrose de coagulação.

O circovírus causa lesões com envolvimento vascular no cérebro, especificamente no cerebelo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN GM., McNEILLY F., KENNEDY S., et al. Pathogenesis of porcine circovirus, experimental infections of colostrums deprived piglets and examination of pig fetal material. **Veterinary Microbiology**. vol 64. p.44-49, 1995.
- ALLAN GM, MEEHAN B., TODD D., et al. Novel porcine circoviruses from pigs with wasting disease syndromes. **The Veterinary Record**. vol 142. p.467-468, 1998.
- ALLAN GM., ELLIS J. Porcine circovirus: A review. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. vol. 12. p 3-14, 2000.
- BANDARRA, PM., CORREA, A., SCHMITZ, M., et al. Caracterização das lesões renais na circovirose suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. vol. 57, suplemento 1. p. 74, 2005.
- CALSAMIGLIA, M., SIBLIA, M., SEGALÉS, J., et al. Detection of porcine circovirus type 2 in different routes of excretion: possible transmission routes and correlation with presence of postweaning multisystemic syndrome characteristic lesions. **Proceedings of the 17th International Pig Veterinary Society Congress**. p.1-28, 2002.
- CALSAMIGLIA, M., OLVERA, A., SEGALÉS, J., et al. Quantification of PCV2 in different routes of excretion: Possible transmission routes and correlation with presence of PMWS characteristic lesions. **Proceedings of the 18th IPVS Congress**, Hamburg, Germany. vol.1.p.11, 2004.
- CHAE, C. Post-weaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. **The Veterinary Journal**. vol 168. p.41-49, 2004.
- CHAE, C. A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. **The Veterinary Journal**. vol.169. p.326-336, 2005.
- CHIANINI, F., MAJÓ, N., SEGALÉS, J., et al. Immunohistochemical characterization of PCV2 associated lesions in lymphoid and non-lymphoid tissues of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. vol. 94. p. 63-75, 2003.
- CLARK, E. Post-weaning multisystemic wasting syndrome. **Proceedings of the American Association of Swine Practitioners**. vol.28. p.499-501, 1997.
- CLARK, E., ELLIS, J., ALLAN, G., et al. Post-weaning multi-systemic wasting syndrome in swine. In: **Infectious Diseases of livestock**, 2nd edition. Oxford University Press, Oxford. p.1374-1386, 2004.

- CORRÊA, A., PESCADOR, CA., SCHMITZ, M., et al. Lesões encefálicas associadas com circovirose suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. vol. 57, suplemento 1. p. 57, 2005.
- COWAN, ST. **Cowan & Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria**. 2nd edn. Cambridge University Press, 238 p., 1974.
- CULLEN, J., PAGE. R., MISDORP, W. An overview of Cancer Pathogenesis, diagnosis and management. In; **Tumors in domestic animals**, 4th edition Iowa State Press. Ames. p. 3-45, 2002.
- DARWICH, L., SANDRINE, P., ROVIRA A., et al. Cytokine mRNA expression profiles in lymphoid tissues of pigs naturally affected by postweaning multisystemic wasting syndrome. **The Journal of General Virology**. vol. 84. p.2117-2125, 2003.
- DEWEY, C. Diseases of the nervous and locomotor system. **Diseases of swine**, 8th edition. Iowa State University Press, Ames. p.563-579, 1999.
- DONE , JT., HARDING, JDJ. Kongenitaler tremor der Schweine (Zitterkrankheit der Ferkel): Veränderungen und Ursachen. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**. vol.74.p.333-334, 1967.
- DREW, TW., GRIERSON, SS., KING, DP., et al. Genetic similarity between porcine circovirus type 2 isolated from the first reported case of PMWS in South Africa and North American isolates. **The Veterinary Record**. vol.155.p.149-151, 2004.
- DRIEMEIER, D., CRUZ, CE., GOMES., MJ., et al. Aspectos clínicos e patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. vol.19. p.109-115, 1999.
- DROLET, R., THIMBAULD, S., THOMSON, JR., et al. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): an overview of the disease. **Journal of Swine Health and Production**. vol.6. p.283-285, 1999.
- ELLIS, JA., LAIRMORE, M., KRAKOWKA, S., et al. Reproduction of lesions of Post-weaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic piglets. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. vol.11. p.3-14, 1999.
- ELLIS, J., KRAKOWKA, S., ALLAN, G., et al. The clinical scope of porcine reproductive and respiratory syndrome virus has expanded since 1987; an alternative perspective. **Veterinary Pathology**. vol 36. p. 262-265, 1999-b.
- HA, Y., JUNG, K., CHAE, C. Lack of evidence of porcine circovirus type 1 and type 2 infection in piglets with congenital tremors in Korea. **The Veterinary Record**. vol.156.p.383-384, 2005.
- HALBOUR, PG. Porcine respiratory disease. **Proceedings of the International pig Veterinary Society Congress**. vol.15.p.1-10, 1998.

- HAMEL, AL., Lin, LL., Nayar, GP. Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. **Journal of Virology**. 72:5262-5267, 1998.
- HARDING, JC. Post-weaning multisystemic wasting syndrome: Preliminary epidemiology and clinical findings. In: **Proceedings of the Western Canadian Association on Swine Practice**, p.21, 1996.
- HARDING, JC. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): Preliminary epidemiology and clinical presentation. **Proceedings of the American Association of Swine Practitioners**. p.503, 1997.
- HARDING, JC., CLARK, ED. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): epidemiology and clinical presentation. **Journal of Swine Health and Production**. vol.6. p.249-254, 1998.
- HARMS, PA., SORDEN, SD. Porcine circovirus-associated pneumonia. In: **Proceedings of the 16th IPVS on PMWS: a new emerging disease of swine**. p.33-37, 2000.
- HARRIS, DL., HAMPSON, SJ., GLOCK, RD. Swine dysentery. In: STRAW, BE., et al. **Diseases of Swine**, 8th edn. Ames: Iowa State University Press, p.613-642, 1999.
- HÉLIE, P., DROLET, R., GERMAIN, MC., et al. Systemic necrotizing vasculitis and glomerulonephritis in grower pigs in southwestern Quebec. **The Canadian Veterinary Journal**. vol 36. p.150-154, 1995.
- HINES, RK., LUKERT, PD. Porcine circovirus as a cause of congenital tremors in newborn pigs. **Proceedings of the American Association of Swine Practitioners**. vol.25.p.344-345, 1994.
- KAMSTRUP, S., MALENE BARFOED, A., HOLLAND FRIMANN, T., et al. Immunisation against PCV2 structural protein by DNA vaccination of mice. **Vaccine**. vol.22. p.1358-1361, 2004.
- KENNEDY, S., SEGALÉS, J., ROVIRA, A., et al. Absence of evidence of porcine circovirus infection in piglets with congenital tremors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. vol.15.p.151-156, 2003.
- KIM, J., CHAE, C. Necrotizing lymphadenitis associated with porcine circovirus type 2 in pigs. **The Veterinary Record**. vol. 156. p. 177-178, 2005.
- KIM, J., CHOI, C., HAN, DU., et al. Simultaneous detection of porcine circovirus 2 and porcine parvovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome by multiplex PCR. **The Veterinary Record**. vol 149. p. 304-305, 2001.
- KIM, J., HAN, DU., CHOI, C., et al. Differentiation of porcine circovirus (PCV)-1 and PCV-2 in boar semen using a multiplex nested polymerase chain reaction. **Journal of Virological Methods**. vol.98.p.25-31, 2001-b.

- KIM, J., CHUNG, HK., CHAE, C. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. **The veterinary Journal**. vol. 166.p.251-256, 2003.
- KIM, J., HA, Y., JUNG, K., et al. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. **Canadian Journal of Veterinary Research**. vol. 68. p.218-221, 2004.
- KIM, J., HAN, DU., CHOI, C., et al. Prevalence and detection of porcine circovirus 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. **The Veterinary Record**. vol. 155.p.489-492, 2004-b.
- KRAKOWKA, S., ELLIS, JA., MCNEILLY, F., et al. Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2). **Veterinary. Pathology**. vol. 38. p.31-42, 2001.
- KRAKOWKA, S., ELLIS, JA., McNEILLY F., et al. Immunological features of porcine circovirus type 2 infection. **Viral Immunology**. vol.15. p.567-582, 2002.
- KURTZ, HJ., SHORT, EC. Pathogenesis of edema disease in swine: Pathological effects of hemolysin, autolysate and endotoxin of *Escherichia coli* (O141). **American Journal of Veterinary Research**. vol. 37. p. 15-24, 1976.
- KURTZ, H,J., QUAST, J. Effects of continuous intravenous infusion of *Escherichia coli* endotoxin into swine. **American Journal of Veterinary Research**. vol. 43. p. 262-268, 1982.
- LADEKJAER-MIKKELSEN, A.S., NIELSEN, J., STORGAARD, T., et al. Transplacental infections with PCV-2 associated with reproductive failure in a gilt. **The Veterinary. Record**. vol.148.p.759-760, 2001.
- LeCANN P., ALBINA E., MADEC F., et al. Piglet wasting disease. **The Veterinary. Record**. vol 141. p.660, 1997.
- LUKERT, P.D. Porcine circovirus, In: **Diseases of swine**, 8th edition. Iowa State University Press, Ames, USA. p.119-124, 1999.
- MADEC, F., WADDILOVE, J. Control PCV2 or control others factors? Several approaches to a complex problem. In: PMWS and PCV2 diseases: beyond the debate. **Merial symposium**, Ames, USA. P.45-53, 2002.
- MANDRIOLI, L., SARLI G., PANARESE S., et al. Apoptosis and proliferative activity in lymph node reaction in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). **Veterinary Immunology and Immunopathology**. vol. 97 p.25-37, 2004.
- McNEILLY, F., KENNEDY, S., MOFFETT, D., et al. A comparison of in situ hybridization an immunohistochemistry for detection of a new porcine circovirus in formalin-fixed tissues from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). **Journal of Virological Methods**. vol.80.p.123-128, 1999.

- McORIST, S., GEBHART, C.J. Porcine Proliferative Enteropathies. In: **Diseases of swine**, 8th edition. Iowa State University Press, Ames, USA. p.521-534, 1999.
- MEEHAN, BM., McNEILLY, F., TODD, D., et al. Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. **Journal of General Virology**. vol 79. p.2171-2179, 1998.
- NAVAGITGUL, P., MOROZOV, I., BOLIN, SR., et al. Open reading frame 2 of porcine circovirus type 2 encodes a major capsid protein. **Journal of General Virology**. vol 81. p. 2281-2287, 2000.
- NAYAR, GPS., HAMEL, A., LIN, L. Detection and characterization of porcine circovirus associated with post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs. **Canadian Veterinary Journal**. v.38. p.385-386, 1997.
- NIELSON, J., VINCENT, I.E., BØTNER, A., et al. Association of lymphopenia with porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). **Vet. Immunol. Immunopathol.** vol. 92. p.97-111, 2002.
- O'CONNOR, B., GRAUVREAU., H., WEST, K., et al. Multiple porcine circovirus 2-associated abortion and reproductive failure in a multisite swine production unit. **Canadian Veterinary Journal**. vol.42. p.551-553, 2001.
- OPRIESSNIG, T., FENAUX, M., YU, S., et al. Effect of porcine parvovirus vaccination on the development of PMWS in segregated early weaned pigs co-infected with type 2 circovirus and porcine parvovirus. **Veterinary Microbiology**. vol. 98. p. 209-220, 2004.
- PENSAERT, M.B., SANCHEZ, R.E., LADEKJAER-MIKKELSEN, A.S., et al. Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. **Veterinary Microbiology**. vol.98. p.175-183. 2004.
- PESCADOR C., ROZZA D.B., ZLOTOWSKI P., et al. Principais lesões histológicas associadas a circovirose em suínos das fases de crescimento e terminação em rebanhos do Rio Grande do Sul. **ABRAVES**. Goiânia. p.105-106. 2003.
- PROPHET E. B., MILLS B., ARRINGTON J. B., SOBIN L. H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C. 1992.
- QUINTANA, J., SEGALÉS, J., ROSSEL, C., et al. Clinical and pathological observations of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. **The Veterinary Record**. vol 149. p.357-361, 2001.
- RODRÍGUEZ-ARRIOJA, GM., SEGALÉS, J., ROSSEL, C., et al. Retrospective study on porcine circovirus type 2 infection in pigs from 1985 to 1997 in Spain. **Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health** vol. 50. p.99-101, 2003.

- ROSSEL, C., SEGALÉS, J., PLANA-DURÁN, J., et al. Pathological and immunohistochemical and in situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). **Journal of Comparative Pathology**. vol 120. p.59-78, 1999.
- ROSSEL, C., SEGALÉS, J., DOMINGO, M. Hepatitis and hepatic damage in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2. **Veterinary Pathology**. vol.37. p.687-692, 2000.
- ROYER, RL., NAWAGITGUL, P., HALBUR, PG., et al. Susceptibility of porcine circovirus type 2 to commercial and laboratory disinfectants. **Journal of Swine Health and Production**. v.9. p.281-284, 2001.
- SANCHEZ, RE., NAUWYNCK, HJ., McNEILLY F., et al. Porcine circovirus-2 infection in swine fetuses inoculated at different stage of gestation. **Veterinary Microbiology**. vol.83. p.169-176, 2001.
- SEGALÉS, J., SITJAR, M., DOMINGO, M., et al. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome in Spain. **The Veterinary Record**. vol.141. p. 600-601, 1997.
- SEGALÉS, J., CALSAMIGLIA, M., DOMINGO, M. How we diagnose postweaning multisystemic wasting syndrome. In: Emerging and re-emerging pig diseases. **Proceedings 4th International Symposium**, Rome. pp.149-151, 2003.
- SEGALÉS, J., ROSSEL, C., DOMINGO, M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. **Veterinary Microbiology**. vol 98. p.137-149, 2004.
- SEGALÉS, J., MARIANO, D., FRANCESCA C., et al. Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. **Veterinary Microbiology**. vol. 98. p. 151-158, 2004-b.
- SIERRA, MA., DE LAS MULAS, JM., MOLENBEEK, RF., et al. Porcine immune complex glomerulonephritis dermatitis (PIGD) syndrome. **European Journal of Veterinary Pathology**. vol 3. p. 63-70, 1997.
- SMITH, SJ., THOMSON, JR., DONE S. Dermatitis/nephropathy syndrome of pigs. **The Veterinary Record**. vol 132. p.47, 1993.
- SOJKA, WJ. **Escherichia coli in animals**. Great Britain: Eastern Press, 231p., 1965.
- SORDEN, SD., HARMS, PA., NAWAGITGUL, P., et al. Development of polyclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of type 2 porcine circovirus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. vol.11.p.528-530, 1999.
- SORDEN, SD. Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome. **Journal of Swine Health and Production**. vol 8. p.133-136. 2000.

- STEVENSON, GW., KIUPEL, M., MITTAL, SK., et al. Tissue distribution and genetic typing of porcine circoviruses in pigs with congenital tremors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. vol.13.p.57-62, 2001.
- THACKER, EL. Porcine respiratory disease complex – what is it and why does it remain a problem? **The Pig Journal**. vol.48.p.66-70, 2001.
- THOEN, CO. Tuberculosis, In: Leman A.D., Straw B.E., Mengeling W.L., D’Allaire S. & Taylor D.J.(ed.) **Diseases of Swine**. 8th ed. p.627-630. Iowa State University Press, Ames. 1999.
- TISCHER I., RASCH R., TOCHTERMANN G. Characterization of papovavirus- and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. **Zentralblatt für Bakteriologie**. vol 226. p.153-167, 1974.
- TISCHER, I., GELDERBLOM, H., VETTERMAN, W., et al. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. **Nature**. vol 295. p. 64-66, 1982.
- TISCHER I., MIELDS W., WOLFF D., et al. Studies on the pathogenicity of porcine circovirus. **Archives of Virology**. vol 40. p.271-276, 1986.
- TODD D., NIAGRO F.D., RITCHIE B.W., et al. Comparison of three animal viruses with circular single-stranded DNA genomes. **Archives of Virology**. vol 135. p.117-129, 1991.
- TODD, D. Circoviruses: immunosuppressive threats to avian species: a review. **Avian Pathology**. vol 29. p.373-394, 2000.
- VINCENT, I.E., CARRASCO, C.P., HERRMANN, B., et al. Dendritic cells harbor infectious porcine circovirus type 2 in the absence of apparent cell modulation or replication of the virus. **Journal of Virology**. vol. 77. p.13288-13300, 2003.
- WALKER, IW., KONOBY, CA., JEWHRST, VA., et al. Development and application of a competitive ELISA for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. vol 12. p.400-405, 2000.
- WEST, KW., BYSTROM, J., WOJNAROWICZ, C., et al. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. vol.11. p.530-532, 1999.
- ZANELLA J.R. C., MORES N. Diagnóstico da síndrome multissistêmica do desmame do leitão desmamado (SMDLD) no Brasil causada pelo circovírus suíno tipo 2. Concórdia: EMBRAPA (**Circular Técnica 270**), p. 1-3, 2001.
- ZANELLA, JR. Doenças emergentes na suinocultura: circovirose suína. **ABRAVES**, Porto Alegre. p.122-127, 2001-b.