



U N I V E R S I D A D E

LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**CARACTERIZAÇÃO DA CIRCULAÇÃO DO VÍRUS DA
SÍNDROME REPRODUTIVA E RESPIRATÓRIA (PRRS)
NUMA SUINICULTURA COM SINTOMATOLOGIA TÍPICA DA
DOENÇA**

Dissertação apresentada a provas públicas para a obtenção do grau de mestre em Medicina Veterinária, orientada por Professor Doutor Claudino Matos e Dr. Pedro Lopes

EVA RAQUEL GABRIEL BARROS, nº a21803104

2024

www.ulusofona.pt



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**CARACTERIZAÇÃO DA CIRCULAÇÃO DO VÍRUS DA
SÍNDROME REPRODUTIVA E RESPIRATÓRIA (PRRS)
NUMA SUINICULTURA COM SINTOMATOLOGIA TÍPICA DA
DOENÇA**

VERSÃO FINAL

Dissertação defendida em provas públicas na
Universidade Lusófona, Centro Universitário de
Lisboa, no dia 13/ 05/2025, perante o júri, nomeado
pelo Despacho de Nomeação n.º: 298 / 2025, de 14
de abril com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Mariana Batista

Arguente: Professora Doutora Sofia Van Harten
(ESAS)

Orientador: Professor Doutor Claudino Matos

Este trabalho também foi orientado Doutor Pedro
Lopes

EVA RAQUEL GABRIEL BARROS, nº a21803104

2024

www.ulusofona.pt

Agradecimentos

Agradeço à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, por proporcionarem uma formação de excelência, ao seu corpo docentes por toda a formação académica e experiências profissionais que transmitiram ao longo do curso.

Ao Professor Doutor Claudino Matos por toda a sua dedicação e ajuda na realização desta dissertação.

Ao Doutor Pedro Lopes, por aceitar ser meu co-orientador. Pelo apoio e força que sempre me deu, ao longo deste período, e que continua a dar.

A toda a equipa da Suigranja- Casal da Torre, por me terem recebido e transmitido os seus conhecimentos e experiências.

A toda a minha família e amigos que sempre me apoiaram, ao longo destes seis anos de curso, pela força e palavras sábias nas horas mais críticas. Um especial agradecimento aos meus avós maternos, sem a ajuda deles, não seria possível concretizar este sonho.

Aos grandes amigos que este curso me deu, sem eles não era a mesma coisa.

Resumo

A Síndrome Reprodutiva e Respiratória Suína (PRRS, do inglês “Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome”) é uma infecção viral, com grande impacto económico. O vírus apresenta uma grande variabilidade devido à sua diversidade genética, o que pode influenciar o diagnóstico, originando por vezes resultados falso-negativos.

Deste modo, o presente trabalho teve como objetivo determinar a circulação do vírus PRRS na exploração onde o estudo se realizou, caracterizar a prevalência do vírus nas diferentes fases de crescimento dos suínos e avaliar a eficácia das medidas de controlo e manejo sanitário implementadas.

Para tal, procedeu-se à colheita de amostras de soro de suínos nas diferentes fases de crescimento, das porcas reprodutoras e de quarentena. Colheram-se línguas de leitões mortos na fase das recrias e as caudas dos leitões das maternidades. Todas as amostras foram analisadas pelo método de ELISA com o kit IDEXX PRRS X3 Ab, para a deteção dos anticorpos e o método RT-PCR com o kit VetMAX™ PRRSV EU & NA 2.0, para identificar o RNA viral.

Os resultados indicaram uma elevada taxa de positividade ao teste ELISA nas várias idades, sugerindo uma ampla exposição ao vírus, quer seja por meio de anticorpos maternos ou pela exposição ao vírus de campo. Durante a permanência na engorda, há a possibilidade de contacto com o vírus de campo, havendo uma diminuição da viremia na última fase da engorda, sugerindo que os leitões podem controlar a infecção ao longo do tempo.

Com base nos resultados obtidos, classificou-se a exploração do estudo, na categoria I-B, segundo o protocolo de classificação da Associação Americana de Veterinária de Suínos, que representa as explorações com prevalência relativamente baixa de leitões positivos para PRRS, após provar que há excreção intermitente de PRRS em leitões.

Palavras- chave: síndrome reprodutiva e respiratória suína (PRRS); suínos; variabilidade; biossegurança, controlo, classificação.

Abstract

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) is a viral infection with significant economic impact. The virus exhibits high variability due to its genetic diversity, which can affect diagnosis and sometimes result in false-negative outcomes.

Thus, the present work aimed to determine the circulation of the PRRS virus on the farm where the study was conducted, characterize the prevalence of the virus in different pig growth stages, and evaluate the effectiveness of the implemented control measures and sanitary management practices.

To achieve this, serum samples were collected from pigs at different growth stages, reproductive sows, and those in quarantine. Tongues were collected from piglets that died during the nursery stage, as well as tails from piglets in farrowing units. All samples were analyzed using the ELISA method with the IDEXX PRRS X3 Ab kit to detect antibodies and the RT-PCR method with the VetMAX™ PRRSV EU & NA 2.0 kit to identify viral RNA.

The results indicated a high positivity rate in the ELISA test across various ages, suggesting widespread exposure to the virus, whether through maternal antibodies or wild-type virus exposure. During the fattening phase, contact with the wild-type virus is possible, with a decrease in viremia observed in the final stage of fattening. This suggests that piglets may gradually control the infection over time.

Based on the obtained results, the farm was classified under category I-B, according to the American Association of Swine Veterinarians classification system. This classification represents farms with a relatively low prevalence of PRRS-positive piglets, after demonstrating intermittent PRRS shedding in piglets.

Keywords: porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS); pigs; variability; biosecurity; control; classification.

Lista de abreviaturas

AASV – Associação Americana de Veterinários de Suínos, do inglês “American Swine Veterinary Association”

APCs – Células Apresentadoras de Antígenos, do inglês “Antigen Presenting Cells”

APP – Pleuropneumonia Suína

CEBEA – Comissão de Ética e Bem-Estar Animal

Ct – Limite de Ciclo, do inglês “Cycle Threshold”

E.U.A. – Estados Unidos da América

ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês “Enzyme- Linked Immunosorbent Assay”

Et al. – E outros, da locução latina “*et alli*”

FMV-ULHT – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

FR – Futuras Reprodutoras

GLMH – Gânglios linfáticos mesentéricos com hiperplasia

GLMHC – Gânglios linfáticos mesentéricos com hiperplasia e congestivos

GP2a – Glicoproteína 2a

GP3 – Glicoproteína 3

GP4 – Glicoproteína 4

GP5 – Glicoproteína 5

HRPO – Peroxidase de raiz forte

IDAL – Vacinador intradérmico sem agulha, do inglês “Intradermal vaccinator needle-free”

IFN- γ – Interferão- γ

IFN- α – Interferão- α

IFN- β – Interferão- β

IL-1 β – Interleucina-1 β

IL-2 – Interleucina-2

mL– Mililitros

mRNA – Ácido ribonucleico mensageiro, do inglês “Messenger Ribonucleic Acid”

MSD – Doença Misteriosa dos Suínos, do inglês “Mysterious Swine Disease”

NK – Células Naturais Killer, do inglês “ Natural Killer Cells”

ORF – Grelha de leitura aberta, do inglês “Open Reading Frame”

PCV – Myo- Circovírus Suíno- Mycoplasma hyopneumoniae

PCV2 – Circovírus Suíno tipo 2, do inglês “ Porcine Circovirus type 2”

PF – Pericardite fibrinosa

pH – Potencial hidrogénico

PI – Pneumonia intersticial

Pools – Conjunto de amostras

PP – Pleuropneumonia

PP1a – Poliproteína 1a

PP1ab – Poliproteína 1a

PPF – Pleuropneumonia fibrinosa

PRDC – Complexo de Doença Respiratória Suína

Proteína M – Proteína transmembranar

Proteína N – Proteína do nucleocapsídeo

PRRS – Síndrome Reprodutiva e Respiratória Suína, do inglês “ Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome”

PS – Pericardite serosa

PSC – Peste Suína Clássica

PVS – Parvovirose Suína

Recetor CD163 – Cluster de diferenciação 163, do inglês “Cluster of differentiation 163”

Recetor CD169 – Cluster de diferenciação 169, do inglês “Cluster of differentiation 169”

RNA – Ácido ribonucleico, do inglês “Ribonucleic Acid”

RT-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase com transcrição reversa em Tempo Real, do inglês “ Real-Time Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction”

SA – Sem alteração

Th – Células T auxiliares, do inglês “ T helper cells”

TLRs – Recetores Toll-Like

TMB – Tetrametilbenzidina

TNF- α – Fator de necrose tumoral- α , do inglês “Tumor necrosis factor- α ”

Treg – Células T reguladoras

VIS – Vírus Influenza Suína

Índice

Casuística do estágio.....	13
Introdução.....	15
Etiologia.....	17
Mecanismo de replicação e entrada do vírus nas células hospedeiras	20
Imunologia	22
Alteração da resposta imunológica devido ao vírus PRRS	25
Diagrama da desregulação imunológica através do vírus PRRS no processo de apresentação do antígeno e na polarização.....	26
Vacinação.....	27
Epidemiologia	29
Sinais clínicos	31
Lesões.....	32
Diagnóstico.....	33
Controlo e prevenção.....	36
Estudo experimental	40
Objetivo do estudo experimental.....	43
Material e Métodos	44
Descrição do estudo	46
Resultados.....	48
Discussão	57
Conclusão.....	60
Bibliografia.....	62

Índice de tabela

Tabela 1 – Percentagem aproximadamente de cada ORF do genoma completo do vírus PRRS.	17
Tabela 2 – Interpretação de resultados.	35
Tabela 3 – Resumo da nova classificação da AASV para explorações de reprodutoras.	39
Tabela 4 – Resumo da nova classificação da AASV para explorações de engorda.	39
Tabela 5 – Plano profilático reprodutoras substituição quarentena.	41
Tabela 6 – Plano profilático leitões.	42
Tabela 7 – Plano profilático gestação.	42
Tabela 8 – Plano profilático maternidade.	42
Tabela 10 – Resumo dos resultados.	53
Tabela 9 – Resultados das necropsias.	54

Índice de figuras

Figura 1 – Primeiras manifestações do PRRS pelo mundo. Original da autora.	16
Figura 2 – Taxonomia do vírus PRRS	17
Figura 3 – Estrutura do genoma. Proteínas não estruturais localizadas na extremidade 5´ do genoma e as proteínas estruturais localizadas na extremidade 3´	18
Figura 4 – Representação esquemática do virão e localização das proteínas estruturais ...	19
Figura 5 – Ciclo de replicação do vírus PRRS.....	20
Figura 6 – Processamento e apresentação do antígeno	23
Figura 7 – Polarização das células Th1/Th2	24
Figura 8 – Desregulação imunológica do vírus PRRS na imunidade inata e adaptativa.	25
Figura 9 – Imagem post-mortem, com lesão gastrointestinal, gânglios linfáticos mesentéricos com hiperplasia e congestivos. Fotografias originais da autora.....	55
Figura 10 – Imagem post-mortem, lesão cardíaca, pericardite fibrinosa. Fotografia original da autora.	55
Figura 11 – Imagem post-mortem, lesão pulmonar, pneumonia intersticial. Fotografia original da autora.	56
Figura 12 – Imagem post-mortem, lesão pulmonar, pleuropneumonia. Fotografia original da autora.	56

Índice de gráficos

Gráfico 1 – Casuística total do estágio na Suigranja- Casal da Torre.	14
Gráfico 2 – Resultados teste ELISA total das porcas paridas.	48
Gráfico 3 – Comparação da taxa de abortos entre 2023 e 2024	49
Gráfico 4 – Resultado do teste ELISA de todos os leitões de 4 semanas	50
Gráfico 5 – Comparação da taxa de mortalidade nos leitões de 4 semanas entre 2023 e 2024	51

Casuística do estágio

O estágio curricular realizado no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária no qual originou o presente trabalho, realizou-se na Suigranja- Casal da Torre, na Malveira, no período compreendido entre 15 de setembro de 2023 e 31 março de 2024. Durante o período do estágio, a autora acompanhou o manejo realizado aos animais, participando ativamente em várias atividades fundamentais para a produção suína.

De entre as atividades realizadas, destaca-se as inseminações artificiais, incluindo a preparação do material, o manejo adequado das porcas e a aplicação da técnica. Além disso, a autora esteve envolvida na monitorização das porcas reprodutoras através de ecografias, com o objetivo de confirmar a gestação. As ecografias eram feitas em duas fases da gestação, a primeira ecografia era feita aos 21 dias e a segunda aos 35 dias de gestação.

A implementação do plano profilático das reprodutoras e dos leitões foi outra atividade crucial durante o estágio. A autora participou na administração de vacinas, aplicação de desparasitantes e outras medidas de prevenção de doenças.

No manejo dos leitões, a autora esteve envolvida em atividades como corte de caudas, aplicação de ferro, tatuagem das orelhas e limpeza dos dentes. A monitorização do crescimento e desenvolvimento dos leitões permitiu adquirir experiência prática para garantir o bem-estar e a saúde desde o nascimento até à fase de recria.

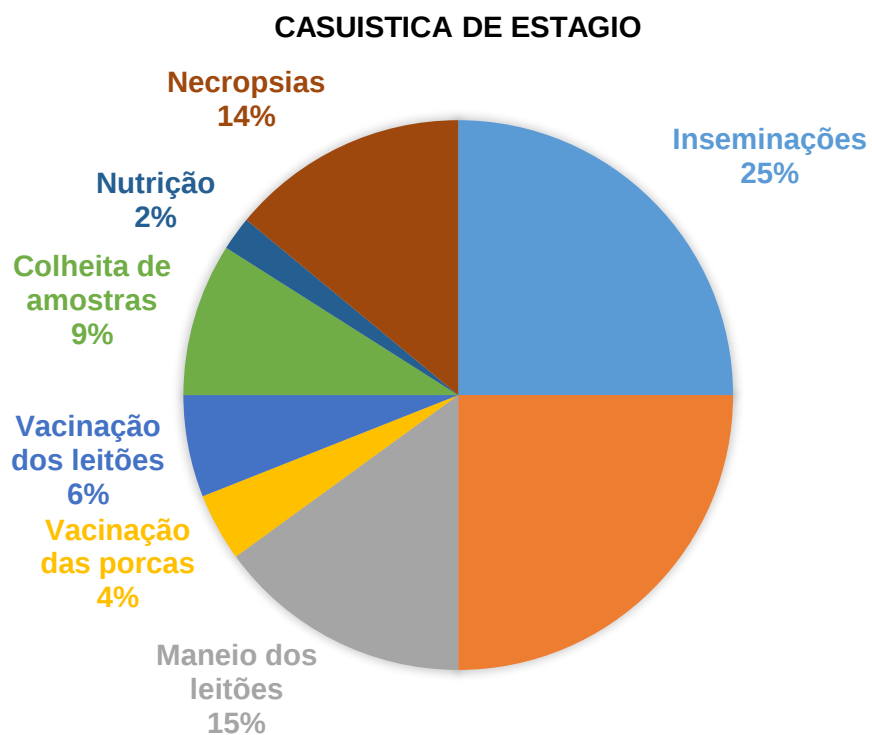
O acompanhamento sanitário dos animais foi uma parte importante do estágio, onde se incluíram exames clínicos regulares, colheita de amostras para análises laboratoriais e implementação de medidas corretivas para controlar e prevenir surtos de doença, com o auxílio do médico veterinário.

A autora participou ainda na implementação de planos nutricionais adequados para as diferentes fases de crescimento, garantindo que estes recebessem uma dieta adequada às suas necessidades.

Além das atividades mencionadas, a autora realizou necropsias nos leitões da fase de recria. Este procedimento teve como objetivo identificar a causa de morte e avaliar a presença de sinais relacionados com a síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos.

No gráfico 1, estão representadas as casuísticas descritas anteriormente.

Gráfico 1 – Casuística total do estágio na Suigranja- Casal da Torre.



Introdução

A síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos (PRRS, do inglês “ Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome”) é uma infecção viral, que engloba duas patologias distintas, sendo estas as falhas reprodutivas em porcas e as doenças respiratórias (Hipra, 2018).

Esta doença foi descrita pela primeira vez nos Estados Unidos da América (E.U.A.) em 1980 e na Europa em 1990 e desde então a doença disseminou-se amplamente por países produtores de suínos (Wills *et al.*, 1997).

Inicialmente, por falta de conhecimento das causas, a doença foi referida como “Mystery Swine Disease- MSD” (Doença Misteriosa dos Suínos). Uma vez que os sinais clínicos demonstrados eram problemas reprodutivos e respiratórios, a doença MSD foi associada a várias etiologias, incluindo os vírus da Encefalomiocardite, Peste Suína Clássica, Enterovírus Suíno, Parvovírus Suíno, Doença de Aujeszky, bactéria *Chalimydia psittaci* e a contaminação da ração por micotoxinas (World Health Organization, 2008).

O primeiro surto surgiu em grupos de suínos no Estado da Carolina do Norte, no qual os sinais clínicos observados foram as perdas reprodutivas, pneumonias manifestadas no pós desmame, redução da taxa de crescimento e o aumento da mortalidade (Lunney, Benfield & Rowland, 2010). Na Europa, casos clínicos semelhantes à MSD foram inicialmente observados em 1990, próximo de Münster na Alemanha. A doença disseminou-se rapidamente, tendo sido documentados 300 surtos na Alemanha em 1991 (Hipra, 2018).

A identificação do agente etiológico europeu foi feita no Instituto Central de Veterinária de Lelystad, na Holanda, a partir do isolamento do vírus de um feto de suíno abortado. O vírus foi denominado de “Lelystad vírus”, em homenagem à cidade onde se localizava o instituto (Wensvoort *et al.*, 1991). Posteriormente, o agente etiológico dos surtos dos E.U.A., foi isolado, tendo-se concluído que eram geneticamente diferentes, mas clinicamente semelhantes (Zimmerman *et al.*, 2019).

Estava-se perante uma doença causada por um vírus com duas espécies diferentes que surgiram concomitantemente em zonas distintas. A explicação para este fenómeno é incerta, porém existem três hipóteses.

A primeira hipótese sugere que o vírus originou-se apenas uma década antes de aparecer em porcos domésticos. O que desencadeou o aparecimento de dois genótipos diferentes num curto período de tempo, implicando uma taxa de mutação elevada do vírus (Hipra, 2018).

A segunda hipótese propõe que os genótipos evoluíram independentemente em ambientes diferentes. Esta hipótese foi proposta por Plagemann. Segundo o autor, o vírus PRRS originou-se num ancestral semelhante ao vírus da elevação do lactato desidrogenase (*Arterivírus*) em camundongos da Europa Oriental. Este ancestral passou dos rato- doméstico para os javalis, que mais tarde foram para uma reserva de caça nos E.U.A., o que tornou possível a transmissão deste por toda a América do Norte. Os javalis funcionaram como hospedeiros intermediários para espalhar o vírus para os porcos domésticos. O vírus evoluiu em paralelo em ambos os continentes (Plagemann, 2003).

A última hipótese sugere que o vírus PRRS pode ter surgido na antiga União Soviética.

Desde o aparecimento dos primeiros casos de PRRS, o impacto económico tem sido significativo, pois provoca altas taxas de mortalidade e os protocolos de controlo e erradicação são dispendiosos (Hipra, 2018).

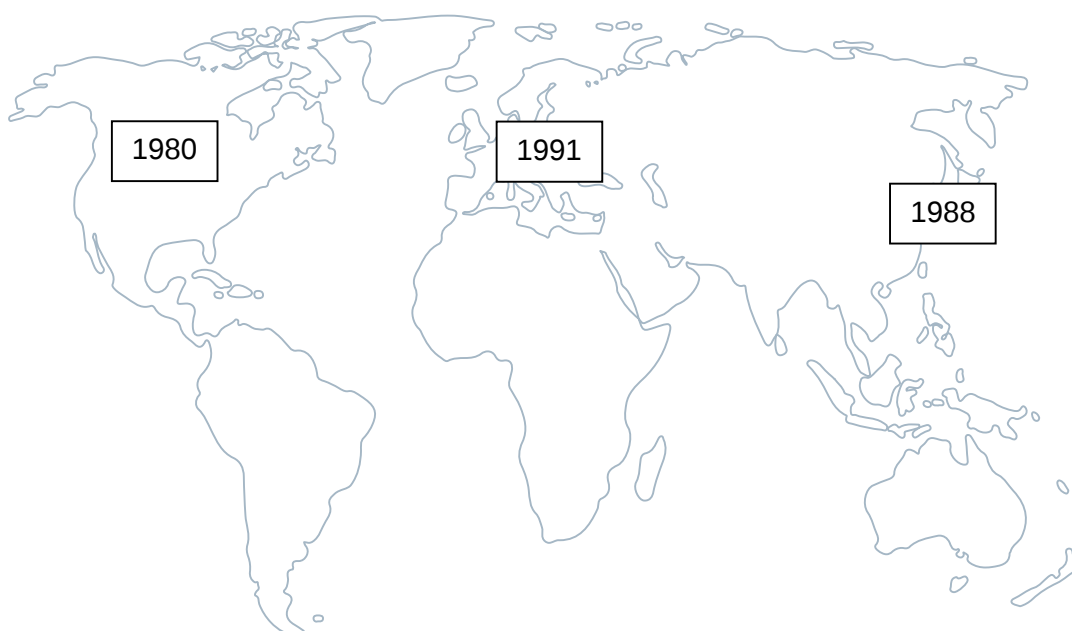


Figura 1 – Primeiras manifestações do PRRS pelo mundo. Original da autora.

Etiologia

O vírus PRRS é um vírus de ácido ribonucleico (RNA do inglês “Ribonucleic Acid”), de cadeia simples envelopada com polaridade positiva, pertencente ao gênero *Porarterivirus*, à família *Arteriviridae*, e à ordem *Nidovirales* (Lunney *et al.*, 2010).

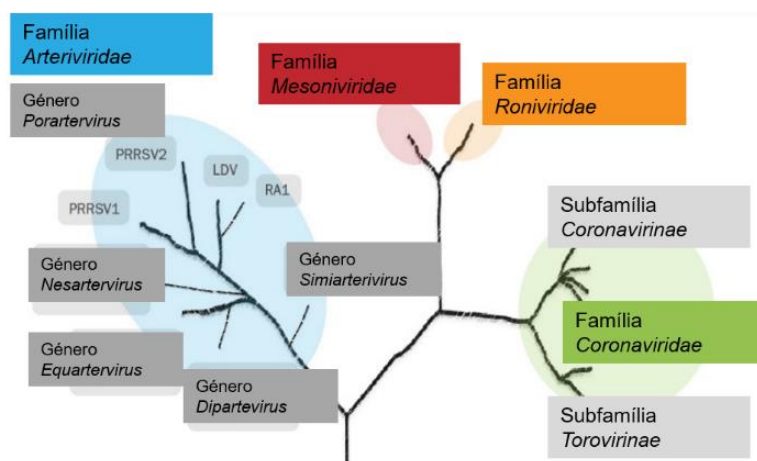


Figura 2 – Taxonomia do vírus PRRS (adaptado de Hipra, 2018).

A cadeia de RNA é composta por nove fragmentos de “Open Reading Frame”- ORF, que se sobrepõem parcialmente sobre si. As ORFs 1a e 1b ocupam 80% do genoma e codificam as proteínas não estruturais que participam na transcrição e na replicação do RNA, incluindo o RNA-polimerase (Luque, 2006, p.5). O restante genoma é composto pelas ORFs 2-7 que codificam as proteínas que formam o virião.

Tabela 1 – Percentagem aproximadamente de cada ORF do genoma completo do vírus PRRS (adaptado de Hipra, 2018).

ORF 1a	+/- 45%
ORF 1b	+/- 30%
ORF 2a	+/- 4,7%
ORF 2b	+/- 1,3%
ORF 3	+/- 3%
ORF 4	+/- 3,7%
ORF 5	+/- 4%
ORF 5a	+/- 1%
ORF 6	+/- 3,5%
ORF 7	+/- 2,6%

As três proteínas estruturais que constituem o virão são a glicoproteína 5 (GP5) codificada pela ORF 5, a proteína transmembranar (Proteína M) codificada pela ORF 6 e a proteína do nucleocapsídeo (Proteína N) que é codificada pela ORF 7. Este também é constituído por glicoproteínas mais pequenas como a glicoproteína 2a (GP2a), a glicoproteína 3 (GP3) e pela glicoproteína 4 (GP4), que são codificadas pela ORF 2a, 3 e 4. As proteínas estruturais N, M e GP5 são necessárias para a formação de partículas e infecciosidade viral, enquanto que as proteínas menores GP2a, GP3 e GP4 são necessárias apenas para a infeção viral (Lunney *et al.*, 2010). A proteína N tem um papel essencial na inibição da imunidade inata do hospedeiro durante a infeção por PRRS (Zhao *et al.*, 2019).

As glicoproteínas do envelope viral (GP2 a GP5) são as primeiras a interagir com os recetores das células do hospedeiro, iniciando assim a infeção. Estas glicoproteínas são expostas ao sistema imunológico quando as partículas virais estão presentes na circulação sanguínea e nos tecidos linfoides. A proteína M é necessária durante a entrada viral para interagir com o recetor celular de sulfato de heparano presente nos macrófagos (Lunney *et al.*, 2010).

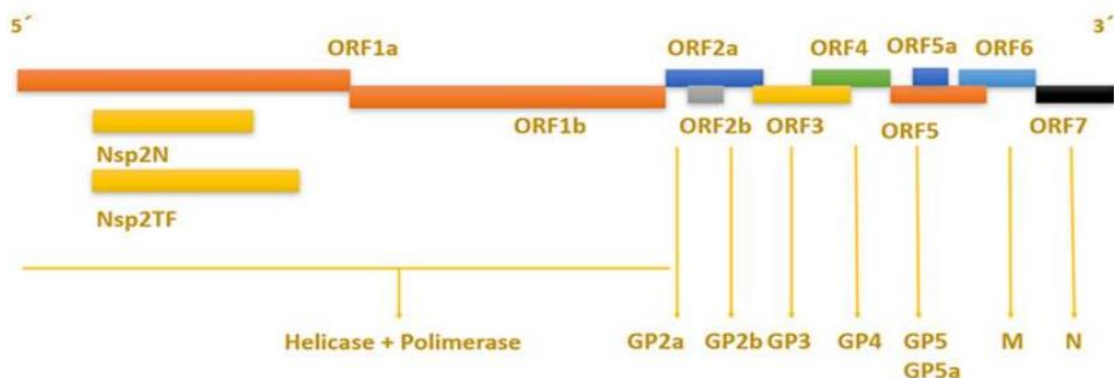


Figura 3 – Estrutura do genoma. Proteínas não estruturais localizadas na extremidade 5' do genoma e as proteínas estruturais localizadas na extremidade 3' (Montaner *et al.*, 2019).

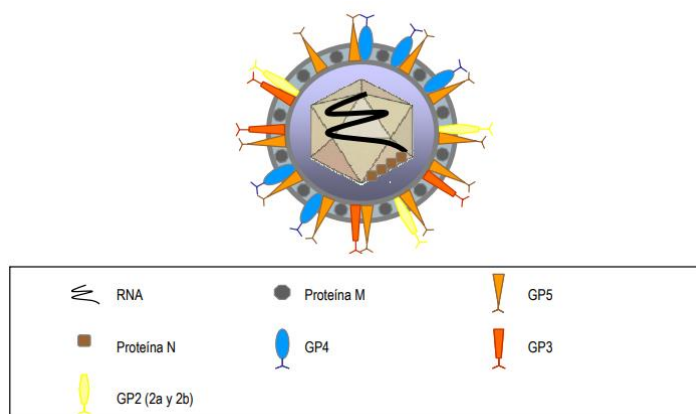


Figura 4 – Representação esquemática do virão e localização das proteínas estruturais (Luque, 2006).

Este vírus tem uma grande variabilidade, devido à sua diversidade genética. A elevada diversidade influencia significativamente o diagnóstico, a resposta imune, o surgimento de novas estirpes, a virulência, o tropismo celular e a epidemiologia (Hipra, 2018).

A partir dos dois protótipos de PRRS, o isolado europeu (vírus Lelystad) e o norte-americano, conseguiu-se determinar as variações genéticas de cada um, com base na análise dos nucleótidos e da sequência dos aminoácidos (Dee, pi).

Consoante a ORF analisada, a homologia será diferente. A similaridade dos protótipos é cerca de 55%-80% e a diferenciação entre si, é cerca de 40%, nas sequências dos aminoácidos (Hanada, *et al.*, 2005). Esta variabilidade genética está diretamente relacionada com os fenómenos de aquisição e perda de virulência (Allende *et al.*, 2000), sendo definido que a ORF 5 é a que sofre maior variação, devido a exibir seis locais potencialmente antigénicos (Luque, 2006, p.5-6). Desta forma, a variabilidade genética da ORF 5 pode determinar a perda ou a alteração da epítipo (Weiland, *et al.*, 1999).

Mecanismo de replicação e entrada do vírus nas células hospedeiras

A infecção viral inicia-se com a entrada da partícula viral na célula hospedeira por endocitose, posteriormente ocorre a fusão da membrana do endossoma com o invólucro viral e consequentemente a libertação da proteína do nucleocápsido (N) no citoplasma. De seguida dá-se a tradução do genoma onde se produz a poliproteína 1a (pp1a) e a poliproteína 1ab (pp1ab) que integram a replicase. As proteínas não estruturais formam o complexo de transcrição e replicação, que está associado a membranas e inicia a síntese de cadeias de RNA complementar. São produzidas tanto cadeias de RNA completas como as de menor dimensão, sendo estas últimas o modelo para a síntese do RNA mensageiro (mRNA, do inglês “Messenger Ribonucleic Acid”) subgenómicos, necessários à expressão das proteínas estruturais, que são codificadas na região 3' do genoma. Os novos genomas são incluídos em nucleocapsides, que são posteriormente envolvidos em membranas intracelulares. Após a libertação dos viriões para a via de secreção, estes são transportados para a membrana plasmática e libertados por exocitose (Snijder, *et al.*, 2013).

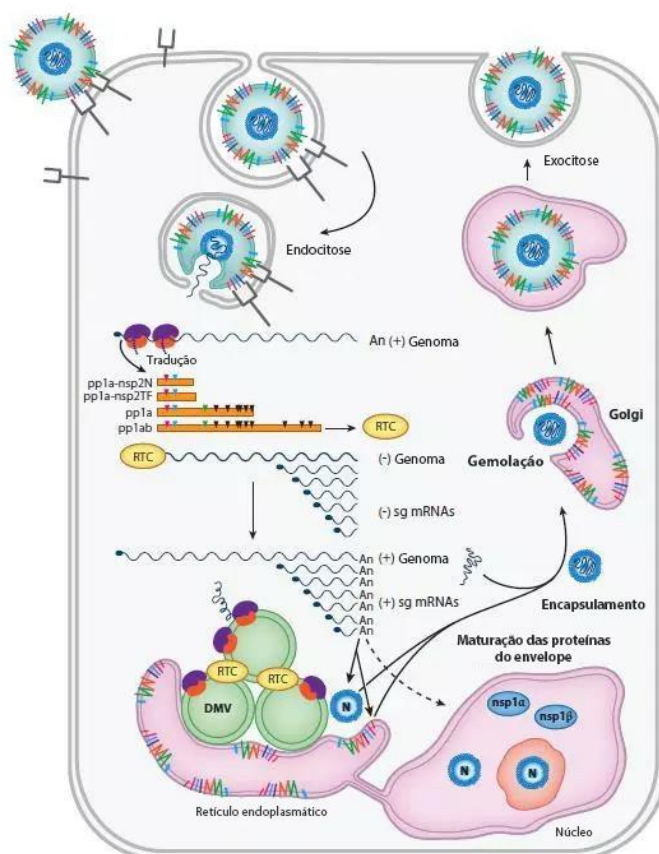


Figura 5 – Ciclo de replicação do vírus PRRS (adaptado de Lunney, *et al.*, 2016).

A infecção por PRRS pode ser categorizada em pelo menos três fases distintas: infecção aguda, infecção persistente e infecção extinta. A primeira fase é representada pela infecção aguda, onde o pulmão é o local de eleição. O vírus começa por replicar-se nos macrófagos e nas células dendríticas dos pulmões, bem como no trato respiratório superior, resultando numa viremia 6 a 12 horas após a infecção. Durante a segunda fase da infecção, a replicação do vírus diminui até que não se consegue detetar vírus no sangue e nos pulmões. Os suínos acabam por deixar de manifestar quaisquer sinais de evidencia de doença clínica. A replicação viral está localizada principalmente nos órgãos linfoides, incluindo as amígdalas e os gânglios linfáticos, mas não no baço. Posteriormente ocorre a transmissão do vírus através de secreções oro-nasais. Não se sabe ao certo quando ocorre a extinção do vírus no hospedeiro, mas a replicação pode ser mantida até 250 dias após a infecção (Lunney *et al.*, 2016).

A duração da viremia vai depender da estirpe e da idade do animal. Deste modo, a viremia pode prolongar-se por várias semanas nos leitões, embora nos adultos possa durar apenas alguns dias (Hipra, 2018).

Imunologia

Desde os primeiros estudos que se tem vindo a aperceber que a resposta imunológica dos suínos contra o PRRS não é totalmente eficaz. A deficiência na resposta imunológica é evidenciada pela presença de animais com viremias prolongadas ou infeções persistentes, juntamente com uma resposta parcial ou totalmente ineficaz contra reinfeções heterólogas. Um outro fator que contribui para a deficiência na resposta imunológica é o facto do vírus PRRS ter uma grande diversidade genética (Luque, 2006, p.26).

Para perceber sobre o desenvolvimento da imunidade contra o vírus PRRS, tem que se perceber como funciona o sistema imunológico. Deste modo, a resposta imune está dividida em imunidade inata e adaptativa.

O sistema imunológico inato representa a primeira barreira de defesa do hospedeiro contra as infeções virais (Luque, 2006, p.26). Para além das barreiras naturais, a imunidade inata inclui componentes da imunidade humoral e mediada por células, como os granulócitos, macrófagos, mastócitos, células dendríticas e células naturais killer (NK).

A resposta imunidade adaptativa é caracterizada pela produção de citocinas, atividade citotóxica e produção de anticorpos. Na imunidade adaptativa, as subpopulações de células B e T têm a capacidade de se manterem como células de memória. O que quer dizer, que após nova exposição ao mesmo antígeno, essas células de memória podem-se mobilizar rapidamente.

Os sinais inatos conduzem à ativação e polarização dos quatro principais subtipos de células T auxiliares (Th), que são elementos chave na resposta imune adaptativa. Uma vez que as Th são incapazes de reconhecer os antígenos por si mesmos, é necessário a interação das células apresentadoras de antígenos (APCs) para o processamento e a apresentação de antígenos. As APCs incluem as células dendríticas, os macrófagos e as células B.

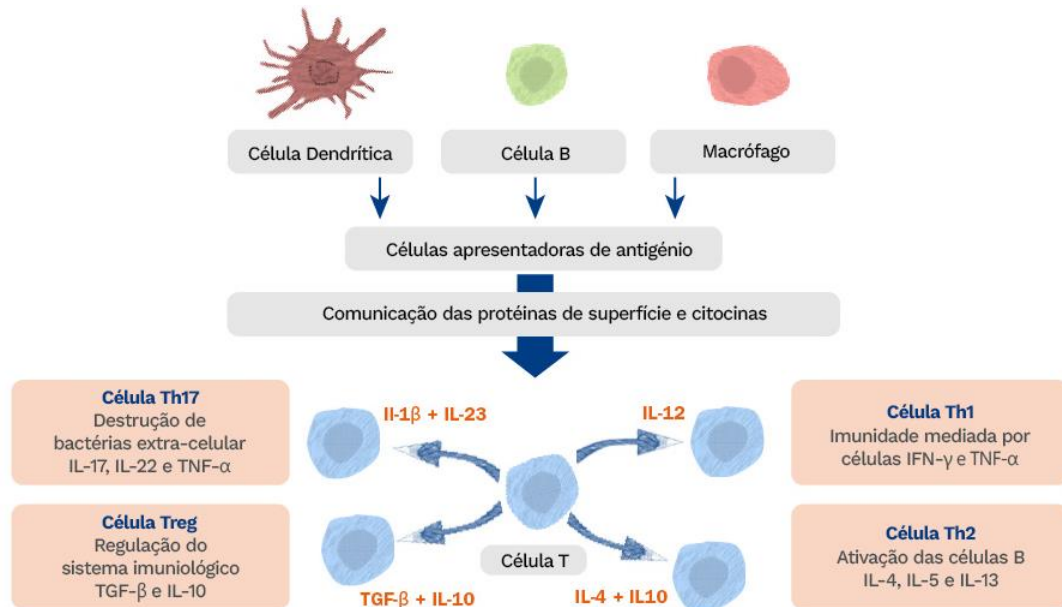


Figura 6 – Processamento e apresentação do antígeno (adaptado de Hipra, 2018).

As APCs processam e apresentam o antígeno à célula Th0. Os sinais providos das APCs antes e durante a apresentação do antígeno promovem a diferenciação e a expansão dos subtipos das células Th.

A polarização de Th1 resulta na produção da interleucina 2 (IL-2), Interferão- γ (IFN- γ) e do fator de necrose tumoral - α (TNF- α), o que leva à ativação e diferenciação dos linfócitos citotóxicos, que eliminam diretamente as células infectadas pelo vírus.

As células Th2 ativadas produzem citocinas que estimulam as células B, promovendo a diferenciação em células plasmáticas B, que são responsáveis pela produção de grandes quantidades de anticorpos.

As células Th17 têm um papel importante nas bactérias e nos fungos, pois recrutam e ativam os neutrófilos e os macrófagos.

Por fim, existem as células T reguladoras (Treg) que regulam as respostas imunes. Elas previnem o desenvolvimento de respostas contra a autoimunidade (Hipra, 2018).

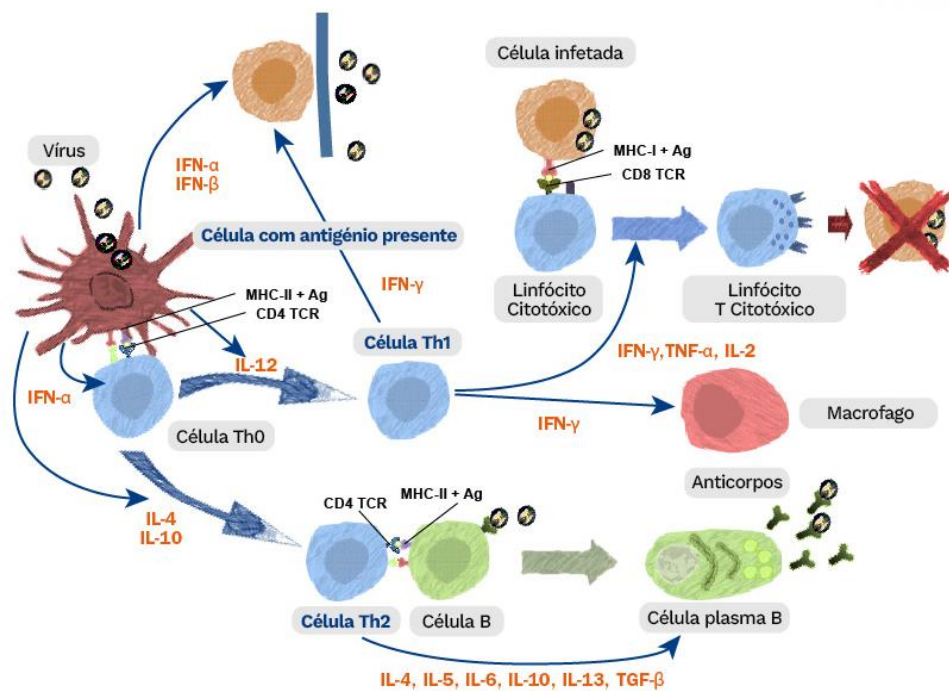


Figura 7 – Polarização das células Th1/Th2 (adaptado de Hipra, 2018).

Alteração da resposta imunológica devido ao vírus PRRS

A resposta imunológica é essencial para combater a infecção, mas o vírus PRRS é notoriamente eficaz em ultrapassar essas defesas naturais do organismo. O vírus PRRS utiliza diversos mecanismos para interferir, modular e inibir os processos imunológicos, quer sejam os inatos ou os adaptativos (Hipra, 2018).

A nível da imunidade inata, o vírus PRS vai inibir a indução e a função do Interferão- α (IFN- α) e Interferão- β (IFN- β), comprometendo assim a primeira linha de defesa. Modula a produção de TNF- α e interleucina-1 β (IL-1 β), induzir citocinas reguladoras, como a interleucina-10 (IL-10), no qual vai contribuir para um ambiente imunossupressor. O vírus inibe ainda a expressão dos recetores Toll-like (TLRs) 3,7 e 9, limitando a detecção do RNA viral. Adicionalmente, produz uma inibição transitória das células NK e interfere na apresentação de antígenos e na ativação das células T.

Relativamente à imunidade adaptativa, o vírus induz uma produção precoce e intensa de anticorpos não neutralizantes, que apesar de serem detetáveis, não conferem proteção eficaz contra a infecção. Por outro lado, a produção de anticorpos neutralizantes, vai ocorrer de forma tardia e em níveis insuficientes. Este desequilíbrio compromete a neutralização vira e favorece a persistência da infecção no animal.

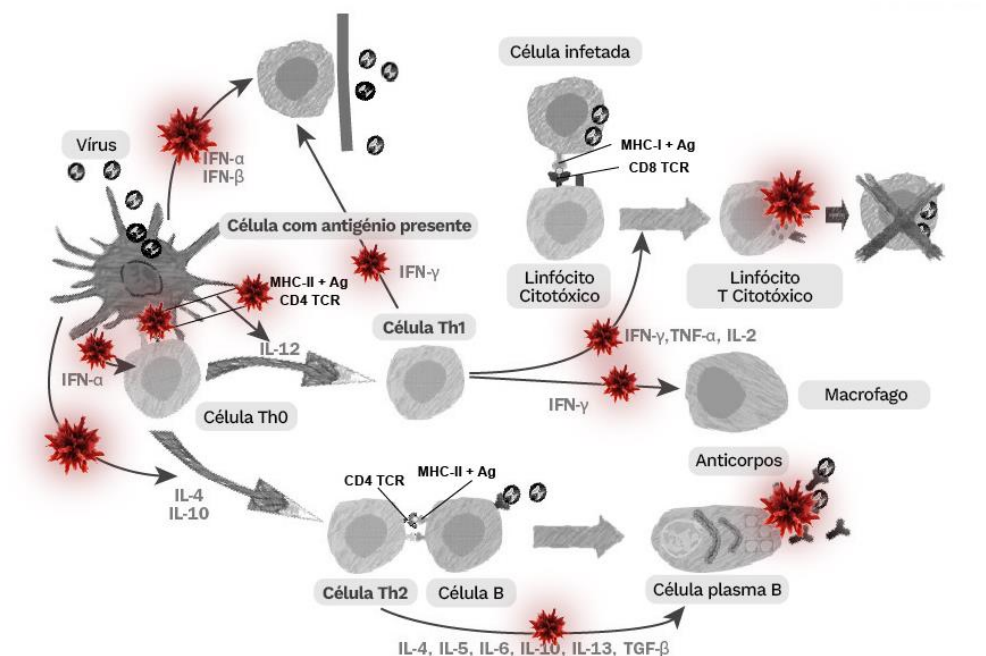


Figura 8 – Desregulação imunológica do vírus PRRS na imunidade inata e adaptativa (adaptado de Hipra, 2018).

Diagrama da desregulação imunológica através do vírus PRRS no processo de apresentação do antígeno e na polarização

Infeções concomitantes

A infecção pelo vírus PRRS pode aumentar a vulnerabilidade dos suínos para outras infecções, ou por outro lado, outras infecções podem existir simultaneamente com o vírus PRRS. Infecções simultâneas com outros agentes patogênicos, quer sejam bactérias ou vírus, são frequentes nas infecções pelo vírus PRRS em condições de campo.

A presença destas coinfeções complica tanto o quadro clínico, como o diagnóstico.

Um exemplo de uma infecção concomitante nos suínos é o Complexo de Doença Respiratória Suína (PRDC). O PRDC é um distúrbio respiratório multifatorial que resulta da interação de vários agentes patogênicos, sendo o vírus PRRS um dos principais agentes primários, para além dos fatores de manejo, ambientais e genéticos. É caracterizado por anorexia, febre tosse e dispneia (Hipra, 2018).

O vírus PRRS aumenta a suscetibilidade dos suínos a outras infecções devido a:

- Danificar o trato respiratório, o que dificulta a eliminação da bactéria;
- O alvo primário é os macrófagos alveolares, que são as principais células de defesa dos pulmões;
- Tem a capacidade de inibir as citocinas com amplas propriedades antivirais, como IFNs tipo I;
- Pode diminuir a citotoxicidade das células NK.

Vacinação

Atualmente existem várias vacinas desenvolvidas contra o vírus PRRS, sendo a maioria baseada em vírus vivo modificado ou vírus inativado. As vacinas de vírus vivo modificado, são predominantes devido à sua eficácia, no entanto, não oferecem proteção completa, especialmente contra estirpes heterólogas. Embora não ofereçam proteção total contra a infecção, é importante pois reduz o impacto da doença.

As propriedades desejáveis para as vacinas contra o PRRS incluem a indução rápida de imunidade duradoura e proteção cruzada contra uma ampla gama de estirpes. É importante que as vacinas necessitem de poucas doses para serem eficazes e que apresentem baixa ou nenhuma excreção e transmissão do vírus vacinal.

Além disso, é essencial que permitam a diferenciação entre animais infetados dos vacinados. Outra característica desejável é que incluam garantia de conformidade na administração, poucos efeitos colaterais e dose única (Hipra, 2018).

Existem seis vacinas no mercado português, a Porcilis PRRS, a Suvaxyn PRRS, a Unistrain PRRS, a Progressis, a Reprocyc PRRS e a Ingelvac, sendo que as mais utilizadas são:

- Porcilis PRRS- vacina de vírus vivo atenuado cujo seu solvente é acetato de DL- α -tocoferol. O esquema de administração consiste numa única dose aos porcos de engorda, havendo a possibilidade de se administrar a partir das duas semanas de idade. Nas porcas reprodutoras deve-se (re) vacinar antes da cobrição as nulíparas, recomenda-se 2-4 semanas antes da cobrição e as múltíparas recomenda-se vacinar antes de cada gestação subsequente. A injeção é intramuscular, no pescoço com a dose de 2 mililitros (mL).
- Suvaxyn PRRS- vacina de vírus vivo atenuado, sua composição de liofilizado e um solvente de cloreto de sódio. O esquema de administração consiste numa única dose aos porcos de engorda de 2 mL, via intramuscular, no pescoço. Esta pode ser administrada a partir de um dia de idade. Nas porcas reprodutoras administra-se uma dose única de 2 mL, quatro semanas antes da reprodução, ou seja, antes de serem inseminadas. Deve-se revacinar com uma dose única a cada quatro meses.
- Unistrain PRRS- vacina de vírus vivo atenuado, a sua composição de liofilizado e um solvente de fosfato. Esta vacina dá-se apenas nas nulíparas e múltíparas, via intramuscular, no pescoço. Nas nulíparas administra-se uma dose única de 2 mL, quatro semanas antes da inseminação. Nas múltíparas administra-se uma dose única de 2 mL, duas semanas antes da inseminação ou às 8-9 semanas de gestação.

- Progressis- vacina de vírus inativado, a sua composição é de um excipiente oleoso que contem poli-isobutano hidrogenado como adjuvante. Esta vacina dá-se apenas nas nulíparas e multíparas, via intramuscular, no pescoço. Nas nulíparas administra-se duas injeções com um intervalo de 3-4 semanas, antes da primeira cobrição. Nas multíparas, administra-se duas injeções com um intervalo de 3-4 semanas.

Epidemiologia

A Síndrome Reprodutiva e Respiratória Suína, após o seu aparecimento, disseminou-se globalmente, tendo-se por isso realizado vários estudos de forma a entender como o vírus se transmite nos efetivos de suínos.

A probabilidade dos suínos se infetarem vai depender da via de exposição e da dose do vírus (Hermann, Muñoz-Zanzi, Roof, Burkhart & Zimmerman, 2005). As vias de exposição incluem a via oral, via intranasal, via percutânea e via sexual, quer seja intrauterina ou vaginal.

Uma vez presente numa exploração, o vírus pode ser transmitido horizontalmente através de fluídos corporais contaminados como secreções nasais ou orais, fezes, sangue, sémen ou vetores. Temos como exemplos de fômites, as agulhas, as botas, os macacões, os veículos de transporte bem como os suínos selvagens. Outra forma de ser transmitido é a partir da transmissão vertical, por via transplacentária, principalmente durante o terceiro trimestre de gestação.

O vírus ao atravessar a barreira placentária, pode levar à morte fetal ou em alternativa os leitões que sobrevivem são por norma fracos e persistentemente infetados. Estes podem permanecer positivos durante muito tempo e infetar outros leitões até três meses após o seu nascimento (Hipra, 2018).

Os suínos infetados podem ser portadores do PRRS, por um longo período. Os adultos são capazes de transmitir o vírus PRRS até 86 dias após a infeção, os porcos desmamados têm a capacidade de manter a sobrevivência e replicação do vírus PRRS durante 157 dias e os varrascos infetados podem eliminar o vírus no sémen até 93 dias após a infeção (Dee, 2020).

A permanência do vírus numa exploração deve-se a distintos mecanismos. Embora na fase aguda nem todos os suínos sejam infetados, todos são suscetíveis à infeção em qualquer fase da sua vida (Miranda & Silva, 2023).

Uma vez que se trata de um vírus envelopado, a sua sobrevivência fora do hospedeiro é afetada pela temperatura, potencial hidrogénico (pH) e pela exposição a detergentes (Dee, 2006).

A sua inativação é possível quando se atingem temperaturas superiores a 56°C, no entanto este é estável sob condições de congelamento, ou seja, mantém a sua infecciosidade durante um período igual ou superior a 4 meses à temperatura de -70 °C (Dee, 2020).

É também possível manter-se estável a um pH entre 6,5-7,5. Quando se encontra abaixo de 6 ou acima de 7,5, a sua contagiosidade é reduzida. Os detergentes e os solventes lipídicos, tais como o clorofórmio e o éter, conseguem também inativar o vírus, pois rompem o envelope (Dee, 2006).

Tendo em conta estes fatores é possível inativar o vírus com procedimentos regulares de limpeza e desinfecção.

Sinais clínicos

As manifestações clínicas diferem devido à virulência da estirpe do vírus PRRS, à idade do suíno, ao estado imunológico, à fase de reprodução em que as porcas se encontram, e à simultaneidade de outros agentes patogénicos (Yoon, 2015).

Nos animais adultos os sinais clínicos mais comuns são períodos de anorexia, febre moderada, letargia (Luque, 2006, p.18) eventualmente pode-se observar a presença de edema subcutâneo, cianose nas orelhas, nas extremidades e na vulva (Rossow, 1998).

Nas porcas reprodutoras, o sinal mais evidente é a diminuição da fertilidade. Quando existem focos de PRRS, detetam-se partos prematuros, abortos tardios, leitões nascidos mortos e fetos mumificados (Yoon, 2015).

Sintomas como anorexia e febre são também identificados, bem como a existência de aumentos no intervalo entreaios, diminuição na intensidade do cio e até abortos precoces (Lunney *et al.*, 2010).

Nos varrascos, a infeção pode provocar uma diminuição da libido por um período de aproximadamente uma semana e uma diminuição do volume de sémen (Luque, 2006, p.18). Alguns estudos determinaram que a qualidade do sémen também é afetada, nomeadamente a existência de uma diminuição da motilidade dos espermatozoides, um maior número de espermatozoides com gotícula citoplasmática distal e acrossoma com estrutura anormal (Schulze, Revilla-Fernández, Schmoll, Grossfeld, Griessler, 2013).

A mortalidade pós-desmame aumenta muito nas explorações afetadas. Os leitões desmamados apresentam apatia, anorexia, dispneia, atraso no crescimento e por sua vez pior índice de conversão (Zoetis, s.d.). A prevalência da doença respiratória associada a PRRS é maior nos leitões de 4 a 10 semanas de idade (Yoon, 2015).

Lesões

As lesões tanto a nível macroscópico como a nível microscópico limitam-se aos pulmões e aos gânglios linfáticos.

O achado microscópico mais comum na doença respiratória causada por PRRS é a lesão pulmonar intersticial, podendo ter distribuição multifocal, lobular ou difusa. A nível macroscópico os pulmões afetados apresentam manchas escuras com variação na sua extensão. Os linfonodos geralmente encontram-se aumentados edematosos ou quísticos.

Nas porcas gestantes com infeção aguda de PRRS são observadas lesões na placenta, endometrites e miometrites. Além do mais, fetos e porcos nascidos mortos, podem apresentar artrites, hemorragias do cordão umbilical, edema das pálpebras e desidratação (Yoon, 2015).

Diagnóstico

Devido à semelhança dos sinais clínicos da infeção causada pelo vírus PRRS com os provocados por outros agentes patogénicos, é necessário realizar testes laboratoriais e um diagnóstico diferencial (Yoon, *et al.*, 2003), tendo sempre em consideração os sinais clínicos, a história clínica da exploração e os registos de produção.

Os diagnósticos diferenciais incluem Parvovirose Suína (PVS), Circovirose Suína tipo 2 (PCV2), Influenza Suína (VIS), Peste Suína Clássica (PSC), Pleuropneumonia Suína (APP) e Leptospirose.

Antes da realização de qualquer análise laboratorial, deve-se ter em conta se o animal foi ou não vacinado e qual o tempo após a vacina, de forma a avaliar se os anticorpos detetados são provenientes de vacinação ou da infeção.

A eficácia da deteção do vírus numa amostra é influenciada pela colheita e pelo manuseamento da amostra. As amostras devem ser colhidas no início da ocorrência da doença, entre o sétimo e décimo dia, pois durante a fase viral da doença existe uma maior quantidade de vírus e na fase final, a quantidade de vírus pode não ser suficiente, podendo induzir a resultados falsos negativos (Yoon *et al.*, 2003).

O exame laboratorial padrão consiste na realização de uma análise designada de reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa, em tempo real (RT-PCR) para detetar RNA viral. É um teste pouco específico, mas altamente sensível que não consegue diferenciar entre a estirpe vacinal e a de campo, sendo por isso feita posteriormente a sequenciação do produto da amplificação (Luque, 2006, p.23; Yoon *et al.*, 2003). Uma vez que o vírus PRRS tem uma grande variabilidade genética, a ORF 5 é um bom local para a realização da amplificação e sequenciação. É contudo aconselhável que se amplifique a ORF 6 como controlo, pois tem uma sequência bastante conservada (Luque, 2006, p.24). A sequenciação consiste na leitura de nucleótidos de alguns segmentos do genoma de RNA viral onde serão comparadas em termos de homologia percentual, através da análise filogenética realizada a partir de um software específico. Esta abordagem resulta na determinação do nível de similaridade entre as diferentes estirpes de vírus PRRS (Sandri, 2018).

Para se proceder a esta análise é necessário material fresco, como sangue, fetos recém-nascidos ou abortados, caudas de leitões, línguas de animais mortos e até mesmo fluidos orais (Zoetis, s.d.).

Os resultados de RT-PCR são mostrados como valores de ciclo limite (Ct). O valor Ct é inverso à quantidade de ácido nucleico presente na amostra, portanto, valores Ct baixos indicam quantidades elevadas. Em contrapartida valores elevados de Ct significam quantidades baixas de ácido nucleico (Zoetis, s.d.). Nos casos de infecção pelo vírus PRRS, os valores de Ct geralmente são de 26 ciclos, mas variam consideravelmente dependendo da idade do animal. Em leitões recém nascidos virêmicos, pode-se observar valores de Ct 17, enquanto que nos adultos, os valores de Ct são de 26 ciclos.

Em geral, valores de Ct ≥ 37 ciclos são considerados resultados com significância biológica baixa ou nula. (Hipra, 2018).

Outro método bastante útil é o teste Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), que determina a presença ou ausência de infecção em animais não vacinados, a partir da detecção de anticorpos contra o vírus PRRS (Zoetis, s.d.).

Atualmente, encontram-se disponíveis comercialmente diversos kits ELISA para a detecção de anticorpos específicos do vírus PRRS, sendo que alguns possuem capacidade de distinguir entre as espécies. Consegue-se diferenciar entre infecção pelo genótipo Europeu e genótipo Americano (Hipra, 2018). Os diferentes testes de ELISA encontram-se direcionados para a proteína N.

Durante a realização do teste ELISA, é fundamental considerar que um resultado positivo pode não indicar necessariamente uma infecção recente. Isto ocorre porque os anticorpos podem ser detetados por um largo período de tempo, geralmente 7 a 14 dias após a infecção desaparecendo antes dos 12 meses (Luque, 2006, p.24-25).

Além disso, é comum encontrar resultados positivos em leitões de maternidade ou no início da fase de transição, devido aos anticorpos maternos, que duram em média até às 4 a 5 semanas de idade (Martínez, *et al.*, 2024).

Na rotina clínica a utilização da combinação do teste ELISA e RT-PCR é bastante comum. A combinação dos testes permite não só detetar uma infecção, como também determinar aproximadamente quando esta ocorreu e monitorizar o estado imunitário a nível individual ou a nível da exploração (Hipra, 2018).

Na tabela 2 podemos interpretar os resultados da combinação dos dois testes de diagnóstico.

Tabela 2 – Interpretação de resultados.

Testes de diagnóstico	Resultados	Interpretação
RT-PCR	Negativo	• Animal negativo
ELISA	Negativo	
RT-PCR	Negativo	• Animal infetado mas não virémico (infecção ocorrida há algum tempo); • Leitões vacinados.
ELISA	Positivo	
RT-PCR	Positivo	• Animal infetado; • Animal vacinado recentemente (<14 dias).
ELISA	Negativo	
RT-PCR	Positivo	• Animal virémico; • Animal reinfectado;
ELISA	Positivo	

Controlo e prevenção

A possibilidade de surgirem estirpes novas e mais virulentas de PRRS ocorre periodicamente, devido à capacidade de recombinação e à sua alta taxa de mutação. Estas características simultaneamente com a ampla distribuição da doença tornam o controlo de PRRS um dos principais desafios do setor da suinicultura (Montaner-Tarbes, *et al.*, 2019).

A prevenção de PRRS envolve a implementação de medidas para evitar a entrada do vírus numa exploração negativa. As medidas incluem a formulação e implementação de um plano de biossegurança, como por exemplo:

- Monitorização dos animais de reposição- efetuar um protocolo de quarentena onde se irá vacinar com uma vacina viva (pelo menos 3 semanas após a exposição de campo) e posteriormente revacinar com vírus vivo modificado às 21 e 25 semanas de vida, realizando testes de diagnóstico no final do período de quarentena;
- Higienizar os veículos de transporte- estabelecer procedimentos de higiene para todos os veículos que entram na exploração como por exemplo ter à entrada da exploração rodolúvios, desinfetar os veículos antes de carregar os animais;
- Protocolos de higiene dos funcionários e visitantes- uso de roupa e calçado próprio da exploração.
- Barreiras sanitárias físicas- deve existir uma vedação integral em rede em todo o perímetro da exploração e uma vedação externa limitando a propriedade onde se insere a exploração. Todas as entradas devem ter um pedilúvio com solução desinfetante (Montaner, 2019; Lunney, 2016; Zimmerman, 2019).

O controlo de PRRS tem como objetivo a redução da circulação do vírus na exploração. Para tal tem de se estabilizar a imunidade da população, de forma a obter leitões negativos à nascença. Um plano eficaz de controlo do vírus PRRS deve basear-se nos princípios da biossegurança, na gestão, na monitorização e na vacinação.

A monitorização, que envolve a deteção do vírus através do teste de diagnóstico RT-PCR e a análise de anticorpos a partir do teste de ELISA, desempenha um papel crucial para detetar problemas precoces associados ao PRRS, classificar a exploração quanto ao vírus PRRS, verificar se o programa de controlo está a ser implementado e avaliar o sucesso do mesmo (Hipra, 2018).

Para criar um programa de controlo do vírus PRRS deve-se avaliar o estado real da exploração, tendo para isso de se recorrer às análises laboratoriais. São utilizados diferentes sistemas para classificar as explorações de suínos de acordo com o seu estatuto de PRRS,

porém são as diretrizes da Associação Americana de Veterinários de Suínos (AASV) que têm sido uma referência para o controle e eliminação da doença. Este sistema de classificação de explorações foi desenvolvido por um comitê formado pela Associação Americana de Veterinários de Suínos e por um projeto sobre PRRS do departamento agrícola dos E.U.A., que posteriormente foi aprovado e publicado em 2011. Uma vez que a suinicultura está em constante evolução, é necessário manter os protocolos atualizados e por esse motivo, o grupo de trabalho da AASV reviu a classificação onde redigiu uma atualização que foi publicada em 2021.

Na versão de 2011, a classificação baseava-se nos resultados da monitorização a partir do soro dos leitões, das nulíparas e das restantes porcas reprodutoras. Já a nova versão, inclui amostras de fluídos de processamento e fluídos orais.

Os fluídos de processamento incluem o exsudato serossanguíneo obtido pela colheita das caudas dos leitões durante o corte. Os fluídos orais são obtidos pela recolha de saliva a partir de uma corda exposta nos parques dos leitões ou das porcas, para que possam mastiga-la (Vilalta, 2022).

O protocolo de classificação da AASV é constituído por quatro categorias, categoria I (positiva instável), categoria II (positiva estável), categoria III (provisória negativa) e a categoria IV (negativa).

A categoria I classificada como positiva instável, está neste momento dividida em duas sub-categorias, sendo estas a positiva instável com alta prevalência (I-A) e a positiva instável com baixa prevalência (I-B). Na categoria I-A estão incluídas as explorações que sofrem um surto de PRRS recentemente e onde se espera uma prevalência elevada de leitões positivos com altos níveis de viremia do vírus PRRS. A categoria I-B representa as explorações com prevalência relativamente baixa de leitões positivos para PRRS, após provar que há excreção intermitente de PRRS em leitões. Para este propósito, usa-se soro de leitões ao desmame ou fluidos de processamento.

O protocolo consiste na monitorização de amostras de soro de 30 leitões perto do desmame de forma mensal e analisar em conjunto de amostras (pools) de 5. A exploração só passará a esta categoria se 75% (3 de 4) dos testes mensais forem negativos para PRRS por RT-PCR, num período de 90 dias. Analisar semanalmente os fluidos de processamento de várias ninhadas ao longo de 90 dias, também apresenta evidências que suportam a baixa prevalência. Se 75% (10 de 13) dos fluidos de processamento semanal forem negativos para PRRS por RT-PCR, a exploração pode passar então para a categoria I-B.

Outra alteração significativa nas diretrizes da AASV envolve a redefinição da categoria II (positiva estável). Uma vez que a excreção do vírus nos leitões desmamados é incerta, é possível que este esteja presente mas não se consiga detetar, porque a prevalência de animais que excretam o vírus está abaixo do nível de detecção de prevalência do tamanho da amostra usada. Posto isto, nas novas diretrizes, foi reduzido o nível de incerteza com o aumento do número de leitões a serem amostrados ao desmame. A primeira opção de acompanhamento para uma exploração ser classificada nesta categoria é analisar mensalmente o soro de 60 leitões próximos do desmame, em pools de 10. Se as quatro colheitas de soro mensais durante um período de 90 dias forem negativas, a exploração pode então progredir para esta categoria. Uma segunda opção de amostra para demonstrar que não há recirculação do vírus, é utilizar a combinação de amostras de soro de leitões do desmame e fluidos de processamento. Com este método é necessário monitorizar mensalmente 30 leitões do desmame e analisar em pools de 5. As amostras de fluidos de processamento devem ser analisadas semanalmente, e devem conter a maioria das ninhadas dessa semana. As explorações só alcançarão esta categoria se todos os testes forem negativos para PRRS a partir da análise de RT-PCR, durante um período de 90 dias.

A última alteração foi a adição da categoria II-vx (positivos estáveis com vacina) à categoria II. Assim como a categoria II, a principal característica é a ausência de recirculação do vírus, com a diferença que nesta é permitido o uso de vacinas vivas modificadas. Para uma exploração estar nesta categoria, a presença de vírus de campo deve ser descartada por sequenciação do genoma viral, o que vai diferenciar a estirpe vacinal da estirpe de campo.

A categoria III (provisoriamente negativa) continua inalterada em relação à versão anterior. As explorações nesta categoria encontram-se a erradicar o vírus PRRS por meio do encerramento da exploração ou por substituição de todas as porcas. Para comprovar a ausência do vírus na exploração, as porcas de substituição, provenientes de origem PRRS negativo, devem permanecer negativas nos testes de ELISA por pelo menos 60 dias após a sua introdução. A amostragem necessária é soro de 60 porcas que tenham estado na exploração pelo menos 60 dias. Os soros serão analisados individualmente para detetar anticorpos. O teste deve ser negativo para todas as porcas, podendo-se assim classificar a exploração com esta categoria.

A categoria IV (negativa) também permaneceu inalterada. As explorações com a categoria IV são negativas à excreção do vírus PRRS e à exposição. O vírus não é detetado na exploração e todas as porcas apresentam resultados negativos para o teste ELISA. Para promover uma exploração a esta categoria é necessário soro de 60 porcas, onde posteriormente será analisado individualmente e todas as amostras terão de ser negativas.

Tabela 3 – Resumo da nova classificação da AASV para explorações de reprodutoras.

Classificação (Holtkamp D, et al., 2021)	Excreção pelos leitões (PCR)	Exposição Reprodutoras (ELISA)
Categoria I-A	Positivo	Positivo
Categoria I-B	Positivo	Positivo
Categoria II	Incerto	Positivo
Categoria II-vx	-	Positivo
Categoria III	Negativo	Positivo
Categoria IV	Negativo	Negativo

Tabela 4 – Resumo da nova classificação da AASV para explorações de engorda.

Classificação (Holtkamp D, et al., 2021)	Exposição Leitões de engorda (ELISA)	Exposição leitões de engorda (RT-PCR)	Exposição leitões de engorda(Vírus vivo modificado RT-PCR)
Positivo	Positivo	Positivo	Incerto
Seropositivos, sem excreção	Positivo	Negativo	Negativo
Vacinados	Positivo	Negativo	Positivo
Negativos	Negativo	Negativo	Negativo

O uso de vacinas vivas modificadas representa umas das principais estratégias de prevenção do PRRS. Além do uso das vacinas, a exposição ao vírus circulante na exploração também é utilizado, para promover o desenvolvimento de imunidade nos animais, reduzindo a viremia e consequentemente controlar a infeção.

Embora a vacinação confira apenas proteção parcial devido à variabilidade entre as estirpes, a sua eficácia pode ser aprimorada mediante a otimização das medidas de biossegurança e manejo da exploração.

Existem diversas vacinas disponíveis comercialmente, sendo que a Porcilis PRRS, é a de eleição na exploração onde foi efetuado o estágio curricular. Esta pode ser utilizada em leitões a partir das 2 semanas de idade, em porcas nulíparas 2 a 4 semanas antes da cobrição e em porcas múltiparas durante todo o ciclo reprodutivo.

Estudo experimental

Introdução

O estudo foi realizado na exploração suinícola Suigranja- Casal da Torre, situada na Malveira, entre os meses de dezembro de 2023 e março de 2024.

Esta pecuária de regime intensivo apresenta 800 porcas reprodutoras e funciona em manejo de bandas semanais.

As fêmeas de reposição provêm de uma outra pecuária, negativa a PRRS, e entram na quarentena com cerca de 110- 120 Kg de peso vivo e onde permanecem até efetuarem o programa completo de vacinação da exploração e adaptação ao microbismo da mesma.

O esquema de profilaxia médica e sanitária é efetuado conforme o plano que melhor se adequa à exploração, levando em consideração as características da mesma e da região onde está situada. Neste protocolo profilático (tabela 5) estão contempladas as principais vacinas utilizadas na exploração estudada, mas também os respectivos agentes etiológicos e substâncias ativas.

Em relação aos leitões, o plano de vacinação (tabela 6) contempla as principais patologias de leitões tais como a Circovirose suína, Pneumonia enzoótica e a Doença de Aujeszky. Antes de dar início ao estudo, os leitões estavam a ser vacinados para PRRS às cinco semanas. No entanto, para avaliar a exploração quanto à circulação de PRRS, a vacina foi alterada para as oito semanas, a partir de outubro.

Tabela 5 – Plano profilático reprodutoras substituição quarentena.

Vacina	Substância ativa	Doença alvo	Fase	Dose	Via de administração
Porcilis PRRS IDAL	Vírus vivo atenuado	PRRS	Semana 1	0,2 mL	Intradérmica
Porcilis Begonia IDAL	Vírus da doença de Aujeszky	Doença de Aujeszky		0,2 mL	
Rhiniseng	Estirpe de <i>Bordetella Bronchiseptica</i> inativada	Rinite atrófica	Semana 2	2 mL	Intramuscular
Porcilis PCV-Mhyo	Antigénio inativado de PCV2	Circovirose e pneumonia enzoótica		2 mL	
Respiporc	Vírus da gripe A inativado	Pneumonia enzoótica	Semana 3	2 mL	Intramuscular
Porcilis Eryseng Parvo-Lepto	Antigénos inativados	Parvovirose, leptospirose e erisipela		2 mL	
Porcilis PRRS IDAL	Vírus vivo atenuado	PRRS	Semana 4	0,2 mL	Intradérmica
Porcilis Begonia IDAL	Vírus da doença de Aujeszky	Doença de Aujeszky		0,2 mL	
Rhiniseng	Estirpe de <i>Bordetella Bronchiseptica</i> inativada	Rinite atrófica	Semana 5	2 mL	Intramuscular
Porcilis PCV-Mhyo	Antigénio inativado de PCV2	Circovirose e pneumonia enzoótica		2 mL	
Respiporc	Vírus da gripe A inativado	Pneumonia enzoótica	Semana 6	2 mL	Intramuscular
Porcilis Eryseng Parvo-Lepto	Antigénos inativados	Parvovirose, leptospirose e erisipela		2 mL	
Ivertin	Ivermectina	Endoparasitas e ectoparasitas	Semana 7	5 mL	Subcutânea

Tabela 6 – Plano profilático leitões.

Vacina	Substância ativa	Doença alvo	Fase	Dose	Via de administração
Porcilis Begonia IDAL	Vírus da doença de Aujeszky	Doença de Aujeszky	10 Semanas de vida	0,2 mL	Intradérmica
Mhosphere PCV IDAL	Circovírus porcino tipo 2	Pneumonia enzoótica	3 Semanas de vida	0,2mL	Intradérmica
Porcilis PRRS IDAL	Vírus vivo atenuado	PRRS	8 Semanas de vida	0,2mL	Intradérmica

Tabela 7 – Plano profilático gestação.

Vacina	Substância ativa	Doença alvo	Fase	Dose	Via de administração
Suiseng (só às porcas novas)	Adesina fimbrial da <i>E. coli</i>	Colibacilose neonatal	10 Semanas e às 13 semanas	2mL	Intramuscular
Respiporc FLU3	Vírus da gripe A inativado	Pneumonia enzoótica	12 Semanas	2mL	Intramuscular
Porcilis PRRS IDAL	Vírus vivo atenuado	PRRS	4 em 4 meses	0,2mL	Intradérmica
Porcilis Begonia IDAL	Vírus da doença de Aujeszky	Doença de Aujeszky	4 em 4 meses	0,2 mL	Intradérmica

Tabela 8 – Plano profilático maternidade.

Vacina	Substância ativa	Doença alvo	Fase	Dose	Via de administração
Porcilis Eryseng Parvo-Lepto	Antígenos inativados	Parvovirose, leptospirose e erisipela	Semana 2	2mL	Intramuscular
Porcilis PCV	Subunidade do antígeno de circovírus porcino tipo 2	Circovirose	Semana 3	2mL	Intramuscular

Objetivo do estudo experimental

O objetivo do estudo foi determinar a circulação do vírus PRRS na exploração, caracterizar a prevalência do vírus nas diferentes fases de crescimento dos suínos e avaliar a eficácia das medidas de controlo e manejo sanitário implementadas. Este estudo teve por base a elevada taxa de mortalidade observada na fase de recria e a elevada taxa de abortos, associados à sintomatologia típica da síndrome reprodutiva e respiratória suína (PRRS).

Para se conseguir classificar a exploração, quanto à circulação do vírus do PRRS, utilizou-se o método de classificação da AASV, que proporciona uma terminologia comum para que veterinários, produtores e investigadores possam comunicar sobre o PRRS.

Para além de avaliar quanto à circulação do vírus, o estudo teve também como objetivo comparar a taxa de mortalidade antes e após a alteração do protocolo de vacinação contra o PRRS.

Material e Métodos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (CEBEA), da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (FMV-ULHT).

Para a realização deste estudo foi necessário diversos materiais como as agulhas, os tubos de colheita de sangue (Serum CAT), o Kit ELISA de PRRS da IDEXX PRRS X3 Ab e o Kit VetMAX™ PRRSV EU & NA 2.0, para o RT-PCR.

As amostras utilizadas no estudo foram recolhidas mensalmente na Suigranja- Casal da Torre, na Malveira e na Suigranja- Casal da Torre. No total, foram recolhidas 325 amostras de soro, 30 amostras de línguas de leitões de recria, bem como uma amostra de feto, garantindo a abrangência das diferentes fases produtivas.

A recolha das amostras foi distribuída da seguinte forma:

- 30 amostras de soro em porcas de reposição;
- 30 amostras de soro em porcas multiparas;
- 30 caudas de leitões recém-nascidos, de forma mensal, durante o período de 60 dias;
- 30 soros de leitões na fase do desmame, de forma mensal, durante o período de 60 dias;
- 30 soros no final de recria e nos porcos de engordas às 14, 18 e 22 semanas de idade.

O cálculo do número de amostras recolhidas em cada fase de crescimento dos suínos foi de acordo com o protocolo de classificação da AASV.

A colheita de sangue foi realizada mediante a técnica de punção da veia jugular, sendo os animais contidos de forma manual por pessoal treinado, sem necessidade de anestesia.

As amostras das caudas foram recolhidas a partir do procedimento rotineiro da exploração que consiste no corte das caudas dos leitões entre o segundo e terceiro dia de vida.

As amostras de línguas foram recolhidas dos leitões que morriam entre as quatro e oito semanas de idade. A recolha destas línguas teve como objetivo entender a presença do vírus PRRS. Paralelamente à colheita das línguas, foram realizadas necropsias nos mesmos, com o intuito de identificar a causa da morte e avaliar se estava relacionado com o vírus PRRS ou com outra patologia.

As necropsias realizadas foram feitas no período de 19 de dezembro a 27 de fevereiro, com o método da necropsia em decúbito dorsal, promovendo a incisão longitudinal da pele sobre a linha mediana, desde a região mandibular até à sínfise púbica.

Descrição do estudo

O estudo foi realizado num grupo de porcas reprodutoras de substituição, porcas reprodutoras, leitões de maternidade, leitões de início de recria, leitões de final de recria e em leitões de engorda.

As porcas reprodutoras de substituição deram entrada no dia 2 de novembro e após a sua chegada, foram submetidas ao protocolo profilático de PRRS, com a vacina Porcilis PRRS com aplicação de duas doses, separadas por duas semanas, sendo este concluído a 27 de novembro. Para avaliar a circulação do vírus PRRS, foram realizadas 30 colheitas de sangue no dia 19 de dezembro. A colheita do sangue foi realizada 21 dias depois da última vacinação de PRRS, pois existe a possibilidade de haver circulação do vírus vacinal durante um período de 3 semanas após vacina. Tendo em consideração a limitação em distinguir entre vírus de campo e vírus vacinal através do PCR positivo, optamos por esta estratégia.

Para além das porcas da quarentena, foram também realizadas colheitas de sangue em porcas já paridas, para avaliar a presença de viremia e a resposta imunológica ao PRRS. Foram colhidas amostras de porcas de 1ª gestação até à 7ª gestação.

Nos leitões de maternidade as amostras utilizadas para análise por PCR foram as caudas cortadas 2-3 dias após o parto.

Os leitões do início de recria tinham três semanas de idade e os de final de recria oito semanas de idade, ambos sem vacinação para PRRS. Analisou-se também os leitões de engorda, às 14, 18 e 22 semanas de idade. O seroperfil realizado tanto nos leitões de início de recria como nos de final de recria, consistiu em retirar 30 amostras de sangue de cada grupo de leitões.

Todas as amostras de sangue foram colhidas por meio de punção venosa da jugular e de forma asséptica. Estas colheitas de amostras foram feitas semanalmente, durante um mês, tendo por base as diretrizes da AASV.

Após as colheitas as amostras foram submetidas a testes laboratoriais, sendo que os métodos utilizados foram o teste ELISA e o RT-PCR. Foi utilizado o Kit ELISA de PRRS da IDEXX, com a designação de Teste IDEXX PRRS X3 Ab. Este teste consiste na microtitulação em placas impregnadas com antigénio do vírus PRRS. Primeiramente a amostra a ser analisada é incubada na cavidade impregnada, e se houver anticorpos específicos para o vírus PRRS, eles formam complexos com os antigénios presentes da placa. Em seguida, as cavidades são lavadas para remover o material não aderido, e um conjunto de anticorpos antissuínio com peroxidase de raiz forte (HRPO), é adicionado, ligando-se aos anticorpos

suínos que se encontram na cavidade. Na etapa seguinte, qualquer conjunto que não se ligou ao antígeno é removido através da lavagem, e o substrato de tetrametilbenzidina (TMB) é adicionado. A intensidade da cor resultante varia conforme a quantidade de anticorpos anti-PRRS que se ligam ao antígeno.

A técnica de RT-PCR utilizada foi a com o Kit VetMAX™ PRRSV EU & NA 2.0. A estirpe europeia e a norte- americana são detetadas e diferenciadas a partir do uso de sondas de hidrólise, no qual geram um sinal de fluorescência.

Resultados

Como observado na tabela resumo, as porcas de quarentena têm 93% de positividade no teste ELISA e 0% de positividade no PCR. O que quer dizer que as porcas desenvolveram uma resposta imunológica ao PRRS apresentando anticorpos vacinais, pois a vacina Porcilis PRRS é uma vacina viva. Uma vez que se encontravam negativas no teste PCR, podemos dizer que não se encontravam virémicas, nem ao vírus de campo nem ao vírus vacinal, sendo os anticorpos produzidos em resposta à vacina.

Em relação às porcas paridas, observou-se que as de 2ª e 4ª gestação tinham 66% de positividade e 75% respetivamente, enquanto as restantes apresentam 100% de positividade. Para o teste PCR todas deram negativo para a presença de RNA viral. Os resultados do teste ELISA (gráfico 2) indicam que uma parte das porcas de 2ª e 4ª gestação não desenvolveram anticorpos suficientes contra o PRRS. As possíveis causas para este acontecimento pode ser uma vacinação ineficaz, variabilidade individual na resposta imune e o stress, que podem influenciar a eficácia da resposta imune. Estes resultados indicam-nos que a maioria das porcas desenvolveu anticorpos contra o PRRS, e que o vírus não circula neste grupo, o que nos pode sugerir uma eficácia da resposta imunológica das porcas, devido à vacinação.

Total de Porcas de maternidade

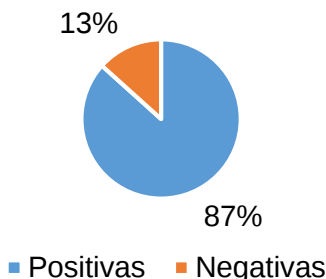


Gráfico 2 – Resultados teste ELISA total das porcas paridas.

Além da análise das amostras, procedeu-se à análise da taxa de abortos.

Para analisar a evolução da taxa de abortos, comparou-se o número médio mensal de abortos durante os primeiros quatro meses de 2023 e 2024. Entre janeiro e abril de 2023, registaram-se seis abortos, o que resulta numa média mensal de 1,5 abortos por mês. No entanto, no mesmo período de 2024, o número de abortos aumentou para 13, com uma média de 3,25 abortos por mês.

Esta diferença reflete um aumento do número médio de abortos mensais no início de 2024, em comparação com o mesmo período do ano anterior.

Com a análise feita a um feto abortado, durante o período de 2024, obteve-se um resultado negativo ao teste PCR. Este achado sugere que os abortos ocorridos podem não estar diretamente relacionados com a presença de PRRS, uma vez que com os resultados analisados dos leitões e das porcas paridas, observa-se uma ligeira estabilidade da disseminação do vírus PRRS.

Diante este cenário levanta-se a hipótese de que outros fatores, como a infecção por *Leptospira spp.*, possam estar a contribuir para o aumento da taxa de abortos, como observado no gráfico 3. A leptospirose é um dos diagnósticos diferenciais da PRRS, uma vez que está associada a perdas reprodutivas no final da gestação, e os leitões que nascem encontram-se fracos (Zbigniew & Elli, 2019).

Desta forma, é necessário considerar outros agentes infecciosos ou fatores ambientais como possíveis causas do aumento do número de abortos.

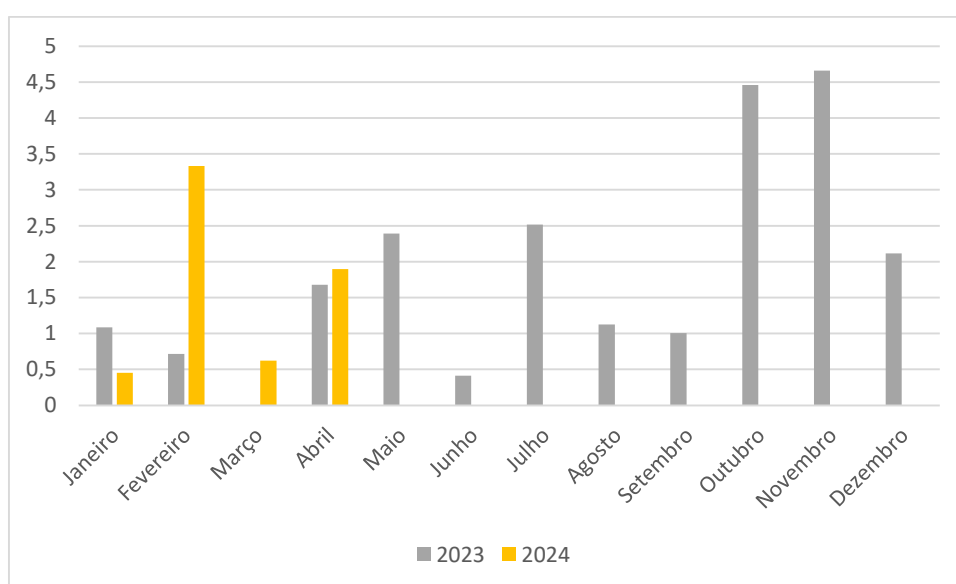


Gráfico 3 – Comparação da taxa de abortos entre 2023 e 2024

Seguindo para os resultados dos leitões ao nascimento, foram analisadas as caudas dos mesmos, para determinar a presença do vírus PRRS. Entre os sete grupos de caudas de 30 ninhadas analisados, um grupo apresenta resultado positivo para PCR, enquanto que seis apresentaram resultado negativo. Estes resultados indicam que apesar da maioria dos lotes de leitões não apresentarem viremia à nascença, há evidência de circulação de PRRS em pelo menos um lote. A presença de um lote positivo sugere que a infecção pode não estar

completamente controlada no final da gestação ou na entrada da maternidade. As possíveis causas para a ocorrência de positividade podem incluir uma transmissão vertical, pois uma porca positiva pode ter transmitido o vírus durante a gestação ou na entrada da maternidade devido ao stress da mudança.

Os resultados do teste ELISA (gráfico 4) nos leitões de 4 semanas de idade mostram que 74% dos animais ao longo deste período de estudo apresentaram anticorpos contra o vírus vacinal, transmitidos pelas mães via colostro. Esta ocorrência (74%) pode estar relacionada com uma imunidade materna insuficiente ou falhas no encolostramento dos leitões.

Dos cinco lotes analisados às 4 semanas, apenas um lote apresentou positividade para o teste PCR. Esta ocorrência pode estar relacionada com a possibilidade de estes animais nascerem já virémicos, ou terem contactado com o vírus durante as primeiras semanas de vida. Podem ter sido expostos ao PRRS através do contacto com material contaminado, como por exemplo as botas dos trabalhadores ou devido à proximidade que existe entre as maternidades e as recrias.

Para além das análises sanguíneas e de caudas, foram realizadas análises por PCR nas línguas dos leitões que morreram entre as quatro e as sete semanas. Os resultados indicaram positividade, evidenciando que pelo menos uma das amostras de língua encontrava-se positiva para o vírus.

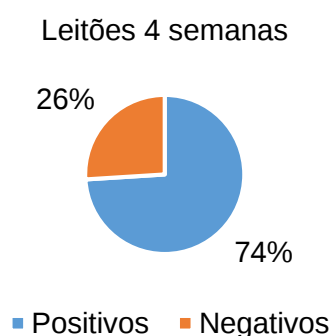


Gráfico 4 – Resultado do teste ELISA de todos os leitões de 4 semanas

Adicionalmente, avaliou-se a taxa de mortalidade (gráfico 5) antes e após a mudança do protocolo de vacinação. Inicialmente a taxa de mortalidade na fase de recria era de 6,218%. Após a implementação da nova estratégia de vacinação, em que os leitões passam a ser vacinados às oito semanas em vez de às cinco semanas, a taxa de mortalidade passa a 5,576%.

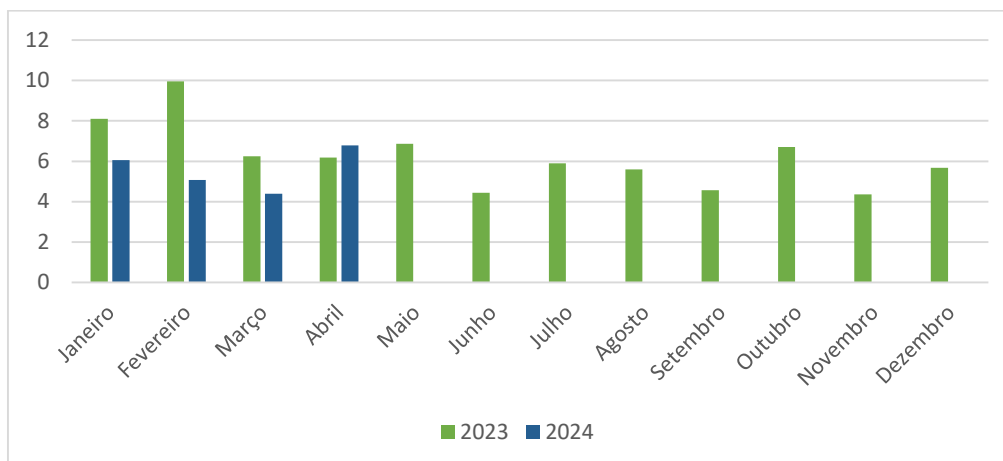


Gráfico 5 – Comparação da taxa de mortalidade nos leitões de 4 semanas entre 2023 e 2024

Os leitões de final de recria foram analisados em duas fases. Analisou-se numa primeira fase, dois lotes de leitões que ainda se encontravam na Suigranja- Casal da Torre, na Malveira, em dois períodos distintos. O primeiro grupo composto por leitões de oito semanas apresentou 50% de positividade ao teste de ELISA e 0% de positividade no teste de PCR. O segundo grupo constituído por leitões de nove semanas apresentou 40% de positividade para o teste ELISA e 100% de positividade para o teste PCR.

No primeiro grupo os anticorpos são de origem maternal, visto os leitões serem PCR negativos. No segundo grupo houve contacto com o vírus pois são PCR positivos. Os anticorpos são produzidos como resposta ao contacto com o vírus, embora em poucos animais.

Essa discrepância nos resultados das duas ocasiões levanta questões sobre a circulação de vírus de campo nos diferentes setores da exploração e sobre as normas de biossegurança internas praticadas.

Na segunda fase foram analisados leitões de 14, 18 e 22 semanas, para conseguirmos compreender a circulação do vírus PRRS. Estes leitões encontravam-se na engorda da Suigranja- Vale da Tábua, onde só entram os leitões criados no Casal da Torre.

Tanto os leitões de 14 como os de 18 e 22 semanas apresentaram 100% de positividade no teste ELISA. No teste de PCR, os leitões de 14 e 18 semanas indicam 100% de positividade, enquanto que os de 22 semanas apresentam 0% de positividade. Com estes resultados podemos sugerir que existe uma elevada circulação do vírus nas fases iniciais da engorda, seguida de uma possível redução ou eliminação do mesmo.

Tendo em consideração a elevada positividade no teste PCR nos leitões de final de recria, foi realizada uma sequenciação do material genético para diferenciar entre estirpe de campo e estirpe vacinal. A sequenciação foi apenas possível nos leitões de nove semanas, pois os restantes apresentavam valores Ct superiores a 30, indicando uma carga viral insuficiente para sequenciar. Nos leitões de nove semanas, foram sequenciadas duas amostras, pois eram as que apresentavam valores Ct de 27 e 28.

Os resultados demonstram uma homologia de 86,47% com a estirpe da vacina Hipra, 85,97% com a estirpe da vacina MSD e 84,98% com a estirpe da vacina Zoetis. Tendo em conta que a vacina utilizada na exploração é a da MSD, poderia sugerir-se que se tratava de vírus vacinal. No entanto, como a homologia não supera 97-98% então estamos provavelmente perante um vírus de campo, ou seja, os leitões estão infetados com o vírus PRRS (Stadejek & Murtaugh, 2015).

Tabela 9 – Resumo dos resultados.

	Nº de animais	Tipo de amostra	ELISA Positivos	PCR Positivos
Porcas Quarentena	30	Sangue	93%	0%
Porcas Paridas	1ª Gestação- 8 2ª Gestação- 6 3ª Gestação- 1 4ª Gestação- 8 5ª Gestação- 5 6ª Gestação- 1 7ª Gestação- 1	Sangue	100% 66,67% 100% 75% 100% 100% 100%	0% 0% 0% 0% 0% 0% 0%
Leitões ao nascimento	5/12/23- 10 13/12/23- 30 21/12/23- 30 8/02/24- 30 15/02/24- 30 22/02/24- 30 28/02/24- 30 22/03/24- 30	Sangue Caudas Caudas Caudas Caudas Caudas Caudas Caudas	100% - - - - - - -	0% 0% 0% 0% 0% 2 pos.e 1 neg. 0% 0%
Leitões 4 semanas	21/12/2023- 30 8/02/2024- 30 15/02/2024- 30 22/02/2024- 30 28/02/2024- 30	Sangue	67% 93% 70% 67% 73%	50% 0% 0% 0% 0%
Leitões 4-7 semanas	Colheita de 30 línguas durante janeiro e fevereiro de 2024	Línguas	-	Positivo
Leitões 8 semanas	28/12/2023- 30	Sangue	50%	0%
Leitões 9 semanas	8/02/2024- 30	Sangue	40%	100%
Leitões 14 semanas	23/04/2024- 15	Sangue	100%	100%
Leitões 18 semanas	23/04/2024- 15	Sangue	100%	100%
Leitões 22 semanas	23/04/2024- 15	Sangue	100%	0%
Feto	22/03/2024	Feto	-	Negativo

Pos.- positivo; Neg.- negativo

Com o intuito de complementar os dados laboratoriais e clínicos, realizaram-se necropsias e os principais achados encontram-se descritos na tabela 9.

Tabela 10 – Resultados das necropsias.

Leitão	Idade	Lesões Pulmonares	Lesões gastrointestinais	Lesões cardíacas
1	8 Semanas	PI	GLMH	SA
2	5 Semanas	PI; hemotórax	Ascite; enterite; GLMH	PS
3	6 Semanas	PI	GLMHC	PS
4	8 Semanas	PI; hemotórax	GLMHC; ascite	SA
5	5 Semanas	PI	GLMHC	SA
6	5 Semanas	PI	GLMHC	SA
7	6 Semanas	PI	GLMHC	SA
8	6 Semanas	Hemotórax	Decomposto	PF
9	6 Semanas	PP	GLMHC	SA
10	5 Semanas	Pleuropneumonia	GLMHC; enterite	PF
11	6 Semanas	SA	GLMHC	SA
12	7 Semanas	PI	SA	SA
13	6 Semanas	SA	GLMHC; ascite; cólon congestivo com fibrina e petéquias	PF
14	7 Semanas	PPF	GLMHC	SA
15	7 Semanas	PPF	GLMH; enterite; cólon com abscessos	SA
16	8 Semanas	PPF	GLMHC	SA
17	7 Semanas	PPF	SA	PF
18	7 Semanas	PI	SA	SA
19	6 Semanas	Hemotórax	GLMH; ascite	SA
20	7 Semanas	PPF	Intestino delgado e grosso congestivos	SA
21	7 Semanas	PPF	GLMHC	SA
22	5 Semanas	PI		SA
23	7 Semanas	PI	GLMH; ceco congestivo	SA
24	6 Semanas	Pneumonia fibro-necrótica (pulmão consolidado e com abscessos)	SA	SA
25	6 Semanas	PI	Enterite	SA

PI- pneumonia intersticial, PP- pleuropneumonia, SA- sem alteração, PPF- pleuropneumonia fibrinosa, GLMH- Gânglios linfáticos mesentéricos com hiperplasia, GLMHC- Gânglios linfáticos mesentéricos com hiperplasia e congestivos, PS- pericardite serosa, PF- pericardite fibrinosa.



Figura 9 – Imagem *post-mortem*, com lesão gastrointestinal, gânglios linfáticos mesentéricos com hiperplasia e congestivos. Fotografias originais da autora.

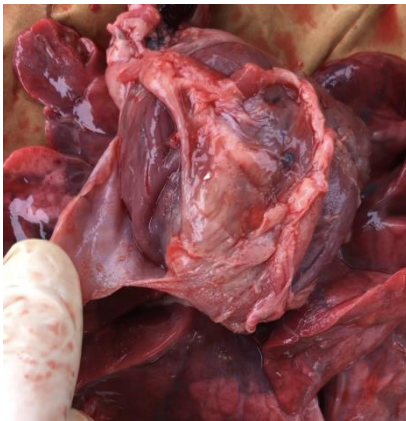


Figura 10 – Imagem *post-mortem*, lesão cardíaca, pericardite fibrinosa. Fotografia original da autora.



Figura 11 – Imagem *post-mortem*, lesão pulmonar, pneumonia intersticial. Fotografia original da autora.



Figura 12 – Imagem *post-mortem*, lesão pulmonar, pleuropneumonia. Fotografia original da autora.

Discussão

A implementação de estratégias de controlo e prevenção é crucial para mitigar a disseminação e o impacto do vírus PRRS na exploração. Não existe uma única estratégia, devido à variação do vírus.

Existe uma dinâmica de circulação de vírus de campo ao longo do tempo, em explorações positivas, mesmo quando se aplicam programas de vacinação em porcas e leitões. A vacinação não garante que se consiga eliminar o vírus de campo da exploração, mas permite controlar uma parte dos sintomas clínicos da doença.

A manutenção nas explorações de animais portadores crónicos assintomáticos de vírus PRRS está reportada na literatura. Estes animais mesmos vacinados podem voltar a excretar o vírus, promovendo a sua disseminação na exploração.

A biossegurança interna desta exploração não permite cortar em absoluto a transmissão do vírus entre os vários sectores da exploração.

A quarentena onde se alojam as porcas futuras reprodutoras (FR) recebidas da exploração de multiplicação, está localizada a menos de 5 metros de um sector de recrias e de maternidades. As FR entram na exploração negativas a PRRS, são vacinadas e nas análises realizadas durante este ensaio, demonstra-se que entram para o sector de gestação positivas a anticorpos de PRRS e PCR negativas, portanto imunizadas e não excretoras, como é desejável.

O sector da gestação está mesmo ao lado das maternidades, com um corredor de acesso comum, onde circulam pessoas e animais entre ambos os sectores. Existe uma grande facilidade de transmissão do vírus entre os dois sectores. Por exemplo das porcas de gestação para as porcas e leitões de maternidade.

As maternidades e as recrias estão muito próximas entre si igualmente com um corredor de acesso comum, onde circulam pessoas e animais entre ambos os sectores. Existe uma grande facilidade de transmissão do vírus, por exemplo dos leitões de recria com 9 semanas para as porcas e leitões de maternidade.

As estratégias de controlo e erradicação do vírus PRRS passam pela implementação de fortes medidas de biossegurança interna nas explorações com corte da circulação viral entre os vários sectores da exploração (Pitkin, 2009).

Nesta exploração não foi possível implementar este tipo de medidas em todos os sectores.

Apenas no sector de quarentena foi aplicado o seguinte protocolo:

- Povoamento tudo dentro / tudo fora, com lavagem, desinfeção e vazio sanitário das instalações entre lotes consecutivos. Restrição da circulação de animais às 3 últimas semanas de quarentena (não há circulação semanal de animais nos corredores).
- Aumento do intervalo entre entrada de porcas FR, que deixaram de entrar todos os meses e passaram a entrar a cada 4 meses. Desta forma é possível aplicar um programa de vacinação contra PRRS com duas doses de vacina na quarentena, e dar tempo suficiente para o estabelecimento de uma imunidade robusta antes da introdução das FR no sector da gestação, onde provavelmente vão contactar com o vírus de campo.

Nos restantes sectores da exploração as normas de biossegurança aplicadas são mais limitadas. No sector de gestação existe povoamento contínuo sem ser possível aplicar a regra do tudo dentro / tudo fora, sendo feita a lavagem e desinfeção das filas de baias ou de parques de gestação, mas com animais ao lado.

Nas maternidades e recrias pratica-se o tudo dentro / tudo fora, por sala mas não por sector por inteiro, com lavagem, desinfeção e vazio sanitário de curta duração. Existe circulação diária de animais e pessoas nos corredores comuns de acesso às várias salas, estando por isso colocados pedilúvios de desinfeção das botas na entrada de cada sala.

Durante o período de estudo, observou-se uma diminuição na taxa de mortalidade de recria em coincidente com a mudança do protocolo de vacinação (gráfico 5). Antes da alteração a taxa de mortalidade na fase de recria era de 6,2175%. Após a mudança, em que os leitões passaram a ser vacinados às oito semanas de idade, a mortalidade passou para 5,576%. Esta redução na mortalidade pode ser atribuída a vários fatores, incluindo uma melhor resposta imunológica dos leitões devido à vacinação ser feita numa idade mais avançada, o que pode proporcionar uma proteção mais eficaz contra o vírus PRRS. Uma outra hipótese é devido à redução da mortalidade por outras causas, nomeadamente por existir uma melhor resposta imunitária dos leitões às enterites por colibacilose pós-desmame. Podemos pensar que uma vez que os leitões deixaram de ser vacinados às cinco semanas de vida, o seu sistema imunitário ficou mais disponível para responder à colibacilose intestinal, tendo como consequência uma melhor recuperação clínica da doença e menor mortalidade.

O manejo adequado dos animais é essencial para reduzir o stress e aumentar a resistência à infeção. Um bom manejo começa por garantir ventilação, temperatura e humidade adequadas para reduzir o stress térmico. Deveria existir um sistema de filtragem

de ar para reduzir a entrada de PRRS através de aerossóis (OIE, 2008), principalmente no pavilhão que se encontra próximo à quarentena. A superlotação nos parques da gestação, recrias e engordas deve ser evitada.

A entrada das porcas de substituição é feita a cada quatro meses, o que é o ideal para evitar possíveis multiplicações do vírus. No entanto, a localização da quarentena deveria estar distante da exploração, pois a entrada de animais negativos neste setor tão próximo das recrias, onde circula o vírus, permite a contaminação das futuras reprodutoras com o vírus PRRS e a sua multiplicação e transmissão ao efetivo reprodutivo, perpetuando a manutenção da circulação viral na exploração.

Nos leitões de maternidade, durante o manejo, deve-se desinfetar as botas entre ninhada, minimizar as adoções, trocar as agulhas entre ninhadas, desinfetar os instrumentos de corte de caudas, de tatuagem de orelhas e a lima dos dentes (Otake *et al* 2002a; 2002b).

Fluxo de suínos “tudo dentro- tudo fora”, juntamente com a limpeza e desinfecção eficiente entre lotes de suínos, pode reduzir a propagação horizontal do PRRS de porcos mais velhos para porcos mais novos (Scheidt *et al* 1995). Uma sala limpa e desinfetada deve secar por um período mínimo de 24 horas, antes da entrada dos novos suínos, uma vez que o PRRS persiste em condições húmidas (Dee *et al* 2002). Sempre que possível, a água utilizada para as limpezas deve ser de poço ou furo, pois a água reciclada das lagoas pode apresentar um risco para a introdução do PRRS, uma vez que sobrevive durante três dias a uma temperatura de 20 °C e por sete dias a 4 °C (Zimmerman *et al* 2006). Os materiais de limpeza, como vassouras e raspadores devem ser próprios de cada pavilhão, e desinfetados ao serem trocados entre salas do mesmo pavilhão (Pitkin, Deen & Dee, 2009).

As pessoas são também um vetor de transmissão do vírus, desse modo, devem estar informadas e conscientes das potenciais vias de transmissão. As recomendações incluem, o uso de roupa e botas específicas da exploração e após o dia de trabalho, os funcionários devem tomar banho. O uso de pedilúvios à entrada de cada pavilhão é recomendável para evitar a transmissão de agentes entre pavilhões.

A desinfecção dos camiões de carga deve ser realizada antes do carregamento dos porcos. O motorista deve vestir um fato-macaco próprio da exploração enquanto realiza o carregamento e deve permanecer na zona limpa do cais de carga.

Conclusão

O estudo realizado sobre a circulação do vírus PRRS revelou a dinâmica da infecção nas diferentes fases de crescimento dos leitões. Os resultados indicam uma elevada taxa de positividade ao teste ELISA nas várias idades, sugerindo uma ampla exposição ao vírus, quer seja por meio de anticorpos maternos ou pela exposição ao vírus de campo. A positividade no teste PCR em leitões indica a presença de infecções ativas desde o nascimento, em pelo menos um dos lotes, confirmada por PCR em pool de caudas analisadas dos leitões com dois dias de vida.

No pós-desmame, foi detetada circulação viral às nove semanas de idade, confirmada por PCR, embora o lote com oito semanas de idade o resultado tenha sido negativo.

Durante a permanência na engorda, há uma possibilidade de contacto com o vírus de campo, evidenciado pela positividade de 100% ao teste PCR nos leitões subsequentes. A viremia diminui na última fase da engorda, sugerindo que os leitões podem controlar a infecção ao longo do tempo.

Com base nos resultados obtidos, consegue-se classificar a exploração na categoria I-B, que representa as explorações com prevalência relativamente baixa de leitões positivos para PRRS, após provar que há excreção intermitente de PRRS em leitões.

A confirmação da presença do vírus de campo por sequenciação sublinha a necessidade de melhorar as práticas de manejo e biossegurança, especialmente durante a fase de maternidade e recria. É essencial implementar estratégias de controlo e prevenção para reduzir a prevalência do PRRS e garantir a saúde e produtividade dos leitões na exploração.

A correlação entre a mudança do protocolo vacinal e a variação da mortalidade nas recrias, sugere que ajustes na estratégia vacinal pode ser crucial na gestão da saúde dos leitões, nomeadamente na disseminação do vírus PRRS e na melhoria da capacidade de resposta imunitária no pós-desmame imediato. Apesar da taxa de abortos não se manter estável.

Além do mais, as lesões macroscópicas observadas nas necropsias dos leitões de recria revelaram uma maior prevalência de lesões entéricas e uma menor incidência de lesões pulmonares compatíveis com as pneumonias provocadas por PRRS. Estes achados sustentam os resultados obtidos nas análise de PCR, que não demonstram uma diminuição da circulação de vírus PRRS na recria.

A exploração manteve até à data o mesmo protocolo implementado, dada a sua eficácia na redução das mortalidades na recria.

Em resumo, o estudo destaca a complexidade da gestão do PRRS e a importância de medidas contínuas para mitigar a propagação do vírus, assegurando melhores condições sanitárias.

Bibliografia

Allende, R., Kutish, GF, Laegreid, W., Lu, Z., Lewis, TL , Rock, DL , ... Osorio, FA (2000). Mutations in the genome of porcine reproductive and respiratory syndrome virus responsible for the attenuation phenotype. *Archives of virology*, 145(6), 1149–1161. <https://doi.org/10.1007/s007050070115>

Dee, S. (2020). Síndrome Reprodutiva e Respiratória Porcina. Acedido em 1 de maio de 2024 em https://www.merckvetmanual.com/generalized-conditions/porcine-reproductive-and-respiratory-syndrome/porcine-reproductive-and-respiratory-syndrome?query=porcine%20reproductive%20and%20respiratory%20syndrome#Etiology-and-Epidemiology_v3275201.

Dee, S., Deen, J., Rossow, K., Wiese, C., Otake, S., Joo, H. S., & Pijoan, C. (2002). Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*, 66(4), 232–239.

Dee, S. (2006). PRRS: Etiología y signos clínicos. Acedido em 1 de maio de 2024 em https://www.3tres3.com/articulos/prrs-etilogia-y-signos-clinicos_1404/

Hanada, K., Suzuki, Y., Nakane, T., Hirose, O. & Gojobori, T. (2005). The origin and evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Molecular biology and evolution*, 22(4), 1024–1031. <https://doi.org/10.1093/molbev/msi089>

Hermann, J. R., Muñoz-Zanzi, C. A., Roof, M. B., Burkhart, K., & Zimmerman, J. J. (2005). Probability of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection as a function of exposure route and dose. *Veterinary microbiology*, 110(1-2), 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.06.012>

Hipra. (2018). The book for PRRS knowledge. (2th ed.). Laboratório Hipra

Holtkamp D, Torremorell M, Corzo CA, Linhares DCL, Almeida MN, Yeske P, ... Sanhueza J. (2021). Proposed modifications to porcine reproductive and respiratory syndrome vírus herd classification. *J Swine Health Prod*, 29(5), 261–270. <https://doi.org/10.54846/jshap/1218>

Lunney, J. K., Benfield, D. A., & Rowland, R. R. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: an update on an emerging and re-emerging viral disease of swine. *Virus research*, 154(1-2), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.10.009>

Lunney, J. K., Fang, Y., Ladinig, A., Chen, N., Li, Y., Rowland, B., & Renukaradhya, G. J. (2016). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): Pathogenesis and Interaction with the Immune System. *Annual review of animal biosciences*, 4, 129–154. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-111025>

Luque, I. (2006). Caracterización de la respuesta inmune de lechones durante la infección y tras la vacunación com el vírus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (Tesis Doctoral). Universitat Autònoma de Barcelona: Departamento de Sanitat i d'Anatomia Animals, Bellaterra. Disponível em <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5605/id1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acedido em 1 de maio de 2024.

Martínez, N., Garza, L., Sibila, M., & Segalés, J. (2024). *Como é que a imunidade materna afecta a resposta imunitária gerada pela vacinação precoce dos leitões?* Acedido em 15 de maio de 2024 em https://www.3tres3.com.pt/artigos/imunidade-materna-e-resposta-imunitaria-na-vacinac%C3%A3o-de-leit%C3%B5es_16524/

Miranda, L., & Silva, E. (2023). Afecções respiratórias na espécie suína decorrentes do sistema de criação intensivo: Revisão. *Pubvet*, 17(05), 10-11. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v17n5e1384>

Montaner-Tarbes, S., Del Portillo, H., Montoya, M., & Fraile, L. (2019). Key Gaps in the Knowledge of the Porcine Respiratory Reproductive Syndrome Virus (PRRSV). *Frontiers in veterinary science*, 6, 38. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00038>

Otake S., Dee S. A., Rossow K. D., Deen J., Joo H. S., Molitor T. W., & Pijoan C. (2002a). Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *Journal of Swine Health Production* 10(2):59–65.

Otake, S., Dee, S. A., Rossow, K. D., Joo ,H. S., Deen, J., Molitor, T. W., & Pijoan, C. (2002b). Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by needles. *The Veterinary Record*, 150(4),114-115.

Pitkin, A., Deen, J., & Dee, S. (2009). Further assessment of fomites and personnel as vehicles for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue canadienne de recherché veterinaire*, 73(4), 298–302.

Pitkin, A., Otake, S., & Dee, S. (2009). Biosecurity protocols for the prevention of spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Acedido em 23 de outubro de

2024 em <https://www.aasv.org/wp-content/uploads/2024/04/2007-dee-biosecurity-manual-english-final.pdf>

Plagemann P. G. (2003). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: origin hypothesis. *Emerging infectious diseases*, 9(8), 903–908. <https://doi.org/10.3201/eid0908.030232>.

Rossow, K. D. (1998). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome. *Veterinary Pathology*, 35(1), 1-20. <https://doi.org/10.1177/030098589803500101>

Sandri, G.(2018).*Sequenciação de PRRSV e o seu uso na prática*. Acedido em 10 de maio de 2024 em https://www.3tres3.com.pt/artigos/sequenciacao%C3%A3o-de-prrsv-e-o-seu-uso-na-pratica_11289/

Scheidt A. B., Cline T. R., Clark L. K., Mayrose V. B., Van Alstine W. G., Diekman M. A., & Singleton W. L. (1995). The effect of all-in-all-out growing-finishing on the health of pigs. *Journal of Swine Health Production* 3(5):202-205.

Schulze, M., Revilla-Fernández, S., Schmoll, F., Grossfeld, R., & Griessler, A. (2013). Effects on boar semen quality after infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a case report. *Acta veterinaria Scandinavica*, 55(1), 16. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-16>

Snijder, E. J., Kikkert, M. & Fang, Y. (2013). Arterivirus molecular biology and pathogenesis. *The Journal of general virology*, 94(Pt 10), 2141–2163. <https://doi.org/10.1099/vir.0.056341-0>

Stadejek, T. & Murtaugh, M.P. (2015). Uso E Interpretação Da Sequenciação Do PRRSV Nos Programas de Controle. Acedido em 29 de maio de 2024 em www.3tres3.com.pt/artigos/uso-e-interpretacao%C3%A3o-da-sequenciacao%C3%A3o-do-prrsv-nos-programas-de-controlo_8783/

Vilalta, C. (2021). *Evolução das directrizes da AASV para classificação do estado de PRRS*. Acedido em 20 de maio de 2024 em https://www.3tres3.com.pt/artigos/evolucao%C3%A3o-das-directrizes-da-aasv-para-classificacao%C3%A3o-do-estado-de-prrs_14646/

Weiland, E., Wiczorek-Krohmer, M., Kohl, D., Conzelmann, K. K. & Weiland, F. (1999). Monoclonal antibodies to the GP5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus are more effective in virus neutralization than monoclonal antibodies to the

GP4. *Veterinary microbiology*, 66(3), 171–186. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(99\)00006-1](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(99)00006-1)

Wensvoort, G., Terpstra, C., Pol, J. M., ter Laak, E. A., Bloemraad, M., de Kluiver, E. P.,... Wagenaar, F. (1991). Mystery swine disease in The Netherlands: the isolation of Lelystad virus. *The veterinary quarterly*, 13(3), 121–130. <https://doi.org/10.1080/01652176.1991.9694296>

Wills, R. W., Zimmerman, J. J., Yoon, K. J., Swenson, S. L., Hoffman, L. J., McGinley, M. J., Hill, H. T. & Platt, K. B. (1997). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: routes of excretion. *Veterinary microbiology*, 57(1), 69–81. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(97\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(97)00079-5)

World Health Organization. Appendices IV and V of the Report of the OIE Ad hoc Group on Porcine Reproductive Respiratory Syndrome: PRRS- the disease, its diagnosis, prevention and control, Paris, 9-11 June 2008. Acedido em 29 de abril de 2024 em https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/PRRS_guide_web_bulletin.pdf

Yoon, K. (2015). Sinais clínicos e diagnóstico de PRRS. Acedido em 1 de maio de 2024 em https://www.3tres3.com.pt/artigos/sinais-clinicos-e-diagnostico-de-prrs_9078/

Yoon, K., Christopher-Hennings, J. & Nelson, E. (2003). Diagnosis of PRRS Virus. https://porkcdn.s3.amazonaws.com/sites/all/files/documents/PRRS/2003Compendium/PRRS_chapter7.pdf

Zbigniew , J., & Elli, W. (2019). Leptospirosis. In: Zimmerman, J., Karriker, L., Ramirez, A., Schwartz, K., Stevenson, G., Zhang, J. (Eds), Diseases of swine (11th edition, pp. 854-861). Hoboken: Wiley-Blackwell.

Zhao, K., Li, L. W., Jiang, Y. F., Gao, F., Zhang, Y. J., Zhao, W. Y.,... Tong, G. Z. (2019). Nucleocapsid protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antagonizes the antiviral activity of TRIM25 by interfering with TRIM25-mediated RIG-I ubiquitination. *Veterinary microbiology*, 233, 140–146.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.05.003>

Zimmerman, J., Dee, S., Holtkamp, D., Murtaugh, M., Stadejek, T., Stevenson, G., Torremorell, M., ... Zhang, J. (2019). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses Porcine Arteriviruses. In: Zimmerman, J., Karriker, L., Ramirez, A., Schwartz, K., Stevenson, G., Zhang, J. (Eds), Diseases of swine (11th edition, pp. 685-686). Hoboken: Wiley-Blackwell.

Zoetis. (s.d). Síndrome Reproductivo Y Respiratorio Porcino (PRRS). Acedido em 10 de maio de 2024 em <https://www2.zoetis.es/productos-y-soluciones/porcino/prrs>