

João Nuno da Cruz Rosa

Necrose nas orelhas numa exploração de suínos em Arouca – Caso de estudo

Orientador: Professor Dr. R. Plácido Roberto da Costa

Constituição do Júri:

Prof. Dra. Ana Isabel Calado Lopes

Prof. Dr. José Manuel Serras de Oliveira Tavares (Presidente Júri)

Prof. Dr. R. Plácido Roberto da Costa

Coimbra, 2022

João Nuno da Cruz Rosa

Necrose nas orelhas numa exploração de suínos em Arouca – Caso de estudo

Relatório de estágio apresentado à Escola Superior Agrária de
Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do
grau de mestre em ENGENHARIA AGROPECUÁRIA

Orientador: Professor Dr. R. Plácido Roberto da Costa

Coimbra, 2022

“Do not go gentle into that good night”

Dylan Thomas

Agradecimentos

A entrega desta dissertação representa o culminar de um percurso duro e de sacrifício pessoal. Aos que me ajudaram a superar este desafio, deixo as seguintes mensagens de gratidão.

Primeiramente, agradecer à minha companheira, Sara Patrícia Oliveira, pelo apoio incondicional e por não me ter deixado desistir deste desafio. O seu espírito crítico enquanto técnica de saúde, também foi importante no desenvolver desta tese.

À minha família, José Rosa e Margarida Lopes, dedico este feito, por todo o apoio financeiro e emocional prestado. Sem eles também não tinha sido possível e sei a importância que este marco representa no seu orgulho pessoal em mim e no seu preenchimento pessoal enquanto pais. Palavras nunca serão suficientes para agradecer o suficiente. Resta-me enquanto filho devolver da melhor maneira possível.

Aos meus futuros sogros, Delfim Oliveira e Manuela Oliveira, o meu obrigado por me lembrar constantemente da importância em obter este grau académico.

Uma palavra de apreço pela ajuda prestada pelo meu orientador, Dr. Roberto da Costa, que me apontou no caminho certo.

Ao meu tutor Eng. Manuel Pereira, por tudo o que me ensinou no mundo da suinicultura e pela paciência demonstrada numa fase de aprendizagem. Estendo estas palavras para a Eng. Zaida Fortunato e Eng. Francisco Machado, pois foram igualmente importantes no meu processo de formação enquanto técnico desta área. A equipa da exploração de Mealha também não está esquecida e ficará para sempre na minha memória como uma das melhores equipas de trabalho pela qual passei.

Agradecer ao professor Doutor Marco Reis da Universidade de Coimbra, pela generosidade e auxílio que me prestou na parte estatística, fundamental para o sucesso da mesma.

Também não ficou esquecido o agradecimento à professora Doutora Bárbara Oliveiros da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, por ter respondido ao meu apelo de ajuda.

Resumo

O Síndrome de necrose das orelhas em suínos (PNES) é uma patologia muito comum na fase de recria da produção intensiva. Apesar de não acarretar grandes prejuízos económicos às explorações, tem de ser vista como um problema de bem-estar animal que requer ação/prevenção. O objetivo principal deste estudo, realizado durante um estágio profissional numa exploração multiplicadora de suínos no concelho de Arouca, foi o de verificar se uma alimentação à base de prebióticos tais como polifenóis, mananoligossacarídeos e ácidos gordos de cadeia média, conseguiria reduzir a incidência de PNES numa exploração com alta prevalência. Neste sentido, foram realizados 2 ensaios, com dois lotes diferentes, onde foram criados dois grupos separados de leitões: um com alimentação de iniciação normal e outra com uma nutrição à qual foram adicionados os prebióticos anteriormente mencionados. No primeiro ensaio, a relação foi quase significativa ($p=0,108$) e no segundo, foi definitivamente significativa ($p=0,041$), ou seja, parte-se do princípio de que estes componentes tiveram um efeito benéfico no sistema imunitário dos leitões. Assim, contrariaram o que se pensa ser uma resposta imunitária habitualmente deficiente e de criação de imunocomplexos nos capilares da ponta das orelhas dos mesmos, que tende a provocar vasculites, trombozes e, posteriormente, necrose dos tecidos. À parte destes resultados, também foram averiguados outras variáveis relacionadas com fatores de risco à PNES, como a genética, a densidade, o peso ao desmame e a temperatura. Foram também isoladas em 6 de 8 amostras de tecido auricular necrótico, bactérias do género *Streptococcus sp.*, microrganismo tido como um dos principais suspeitos na etiologia da PNES.

Palavras-chave: suínos; leitões; necrose nas orelhas; PNES; polifenóis; MOS; MCFA; *Streptococcus sp.*

Abstract

The Porcine Necrotic Ear Syndrome (PNES) is a very common pathology in the rearing phase of intensive swine production. Although it does not cause major economic damage to farms, it has to be seen as an animal welfare problem that requires action/prevention. The main objective of this study, carried out during a professional internship in a swine breeding farm in the municipality of Arouca in Portugal, was to verify whether a diet based on prebiotics such as polyphenols, mannan-oligosaccharides and medium-chain fatty acids could reduce the incidence of PNES in a farm with high prevalence. In this sense, 2 trials were carried out, in different batches, where two separate groups of female piglets were created: one with normal initiation feeding and another with a nutrition to which the previously mentioned prebiotics were added. In the first trial, the relation was almost significant ($p=0.108$) and in the second, it was definitely significant ($p=0.041$), meaning that, it is assumed that these components had a beneficial effect on the piglets immune system. Thereby, preventing the which is thought to be a usually deficient immune response and the formation of immunocomplexes in the capillaries at the tip of their ears, which tends to cause vasculitis, thrombosis and later tissue necrosis. Apart from these results, other variables related to risk factors for PNES were also investigated, such as genetics, density, weaning weight and temperature. Bacteria of the genus *Streptococcus* sp., a microorganism considered to be one of the main suspects in the etiology of PNES, were also isolated in 6 of 8 samples of necrotic ear tissue.

Keywords: swine; piglets; ear necrosis; PNES; polyphenols; MOS; MCFA; *Streptococcus* sp.

Índice

Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract	iv
Lista de figuras	vii
Lista de gráficos	viii
Lista de tabelas	ix
Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas	x
Capítulo I – Introdução.....	1
Capítulo II – Revisão Bibliográfica	2
2.1. Principais distúrbios na fase de recia	2
2.1.1. Diarreias pós-desmame	2
2.1.2. Complicações respiratórias.....	3
2.1.3. Hérnias.....	3
2.1.4. Caudofagia.....	4
2.1.5. Dermatite	4
2.2. Necrose nas orelhas em suínos	5
2.2.1. Sintomas	6
2.2.2. Fatores negativos da patologia	8
2.2.3. Prevalência	8
2.2.4. Possíveis causas infecciosas.....	9
2.2.4.1. Infecção por Estafilococos	10
2.2.4.2. Infecção por Streptococos	10
2.2.4.3. Infecção por Espiroquetas do gênero Treponema	11
2.2.4.4. Trombose por Circovírus tipo 2 e Micoplasma	11
2.3. Fatores de risco.....	12
2.4. Terapêutica	14
2.5. Prevenção	14
2.3. Papel do intestino no sistema imunitário do leitão	15
Capítulo III - Material e métodos.....	17
3.1. Descrição da exploração.....	17
3.2. Maneio geral e Regime alimentar.....	22
3.3. Plano Profilático	24
3.4. Procedimento Experimental	26

3.4.1. Recolha de dados	28
3.4.2. Regime alimentar experimental.....	28
3.4.3. Análise Estatística	30
Capítulo IV - Resultados	30
4.1. Necrose vs. Tipo de ração	30
4.1.1. Ensaio 1	30
4.1.2. Ensaio 2	31
4.2. Necrose vs. Genética	32
4.2.1. Ensaio 1	32
4.2.2. Ensaio 2	33
4.3. Necrose vs. Densidade animal.....	34
4.3.1. Ensaio 1	34
4.3.2. Ensaio 2	34
4.4. Necroses vs. Peso	35
4.4.1. Ensaio 1	35
4.4.2. Ensaio 2	36
4.5. Necroses no tempo	37
4.6. Necroses vs. Temperatura	38
4.7. Análises Laboratoriais	39
Capítulo V - Discussão.....	40
Capítulo VI - Conclusão.....	43
Bibliografia.....	44
Anexos.....	49

Lista de figuras

Figura 1. Início da patologia de PNES na zona circundada a vermelho. (Adaptado de: White, 2012).....	6
Figura 2. Estadio avançado da patologia de PNES (Papatsiros, 2012).	7
Figura 3. Ponta achatada resultante da patologia PNES, evidente no pavilhão auricular direito. (White, 2012).	7
Figura 4. Brinquedos utilizados na fase de recria. Adaptado de (Camerlink I., 2022)	15
Figura 5. Visão aérea da exploração de Mealha e os diferentes pavilhões.	18
Figura 6. Sala de maternidades da exploração (Foto original).....	19
Figura 7. Uma das salas de recria da pecuária da FTPGM (Foto original).....	19
Figura 8. Celas de baias da gestação (Foto original).	20
Figura 9. Esquema da recria relativamente aos dois grupos na experiência e a designação de cada parque.....	27

Lista de gráficos

Gráfico 1. Frequências cumulativas de necroses durante o primeiro ensaio e respetiva mediana. (Original).....	37
Gráfico 2. Frequências cumulativas de necroses durante o segundo ensaio e respetiva mediana. (Original).....	38
Gráfico 3. Evolução da temperatura média diária na sala do ensaio 1. (Original).....	38
Gráfico 4. Evolução da temperatura média diária na sala do ensaio 2. (Original).....	39

Lista de tabelas

Tabela 1. Composição e valor nutritivo do pre-starter “Suilac Pro”. * por ordem decrescente de incorporação	23
Tabela 2. Composição e valor nutritivo do Starter “Suilac Pro”. * por ordem decrescente de incorporação	24
Tabela 3. Plano profilático para leitões aplicado na exploração de Mealha.	24
Tabela 4. Plano profilático para reprodutoras e futuras reprodutoras na exploração de Mealha.	25
Tabela 5. Número de animais por parque, área de cada parque, e respetiva densidade animal, na experiência 1.....	26
Tabela 6. Número de animais por parque, área de cada parque, e respetiva densidade animal, na experiência 2.....	27
Tabela 7. Composição e valor nutritivo do pre-starter experimental. * por ordem decrescente de incorporação	29
Tabela 8. Tabela cruzada entre a contração de necrose e o tipo de ração, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Adaptado de SPSS).....	31
Tabela 9. Estimativa de risco para a contração de necrose, segundo a relação normal/antioxidante. (Adaptado do SPSS).....	31
Tabela 10. Tabela cruzada entre a contração de necrose e o tipo de ração, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 2. (Adaptado de SPSS).....	32
Tabela 11. Estimativa de risco para a contração de necrose, segundo a relação normal/antioxidante, para o ensaio 2. (Adaptado de SPSS).....	32
Tabela 12. Tabela cruzada entre a contração de necrose e a genética dos animais, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Adaptado de SPSS).....	33
Tabela 13. Tabela cruzada entre a contração de necrose e a genética dos animais, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 2. (Adaptado do SPSS)	33
Tabela 14. Estimativa de risco para a contração de necrose, segundo a relação normal/antioxidante, para o ensaio 2. (Adaptado do SPSS)	34
Tabela 15. Tabela cruzada entre a contração de necrose e a densidade animal, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Adaptado de SPSS).....	34
Tabela 16. Tabela cruzada entre a contração de necrose e a densidade animal, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 2. (Adaptado de SPSS).....	35
Tabela 17. Tabela cruzada entre a contração de necrose e as classes de peso, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Adaptado de SPSS).....	35
Tabela 18. Tabelas cruzadas, real e hipotética, respetivamente, entre a contração de necrose e as classes de peso, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Original).....	36
Tabela 19. Estimativa de risco para a contração de necrose, segundo a relação $< 5\text{Kg} / \geq 5\text{Kg}$. (Adaptada do SPSS).....	36
Tabela 20. Tabela cruzada entre a contração de necrose e as classes de peso, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 2. (Adaptado de SPSS).....	37
Tabela 21. Pesquisa de patógenos e testes ELISA para as todas as amostras. (Original)	39

Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas

AC – Antes de Cristo

CN – Cabeças Normais

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DON – Micotoxina deoxivalenol encontrada em cereais

DPD – Diarreia pós-desmame

EE – Epiderme exsudativa

Ehxs – Toxinas esfoliantes de *S. hycus*

ELISA - Ensaio de imunoabsorção enzimática

ETs – Toxinas esfoliantes de *S. aureus*

FTPGM – Produtos Agrícolas e Pecuários, Lda

GMD – Ganho médio diário

GnRH – Hormona libertadora de gonadotrofinas

ICA – Índice de conversão alimentar

ID – Intradérmica

IgA – Imunoglobulina A

IM – Intramuscular

LT – Toxina termolábil da *E. Coli*

MALDI-TOF-MS – Ionização/dessorção a laser assistida por matriz acoplada a espectrometria de massa por tempo de voo

MCFA – Ácidos gordos de cadeia média

MOS – Mananoligossacarídeo

OGM – Organismo Geneticamente Modificado

PCEDA – Plano de Controlo e Erradicação da Doença de Ausjeszky

PCV2 – Estirpe tipo 2 do circovírus suíno

PMWS – Síndrome Multissistémica de Emagrecimento Pós-desmame

PNES – Síndrome de necrose das orelhas em suínos

PRRS – Síndrome Reprodutivo e Respiratório Suíno

PVC – Policloreto de vinilo

SSSS – Síndrome estafilocócica da pele escaldada

ZEA – Micotoxina de designação zearalenona, produzida por *Fusarium sp.*

Capítulo I – Introdução

O porco (*Sus domesticus*) é um animal da classe dos mamíferos, omnívoro e não ruminante. É originário da domesticação do javali euroasiático (*Sus scrofa*). Estima-se que a sua domesticação ocorreu em meados de 9000 AC (Giuffra et al., 2000).

A indústria mundial de suínos produziu 120.88 milhões de toneladas de carne em 2018 (Ritchie & Roser, 2017) e era até então a carne de proteína animal mais consumida no mundo. Porém estatísticas recentes mostram que a carne de frango ultrapassou ligeiramente essa barreira (Shahbandeh M., 2021). Ainda assim, o consumo *per capita* no planeta é de 15,6 Kg/ano de carne de porco, com tendência para aumentar (OECD-FAO, 2021).

A produção agrícola cresceu exponencialmente no pós-Segunda Guerra Mundial. Os avanços tecnológicos e científicos aliados aos apoios por parte do estado, permitiram um rápido aumento e eficiência na produção de carne, ou seja, a industrialização da mesma. Durante muitos anos, este tipo de produção sobreviveu a legislações que tivessem em conta o bem-estar animal, com o argumento de que a sustentabilidade económica servia o interesse nacional. Porém, em meados dos anos 80, começou a insurgir-se lentamente uma visão mais crítica (Woods, 2012). A primeira lei em Portugal que teve em vista a proteção dos animais foi a Lei nº 92/95, de 12 de setembro, que apenas punia os maus-tratos a animais de carácter doméstico. Foi por fim em 2013, que foram aplicadas as medidas de bem-estar animal no contexto produtivo, segundo o Decreto-Lei n.º 64/2000 alterado pelo Decreto-Lei n.º 155/2008, muito por força da comunidade europeia (DGAV, 2018).

Um sistema em que o bem-estar animal não é cumprido, para além do problema moral, terá consequentemente um decréscimo de produtividade. Um animal que não está sadio, é um animal cujo potencial de ingestão não se encontra no limiar máximo que, por sua vez, não terá o ganho médio diário desejável. Para além destes aspetos já negativos, o próprio mercado de consumo está atualmente mais consciente destas questões, o que pode ter impacto no valor de mercado desta carne (Deen, 2010).

A síndrome de necrose das orelhas em suínos (PNES) tem de ser adereçado como um problema de bem-estar animal e como tal, a procura pela prevenção e as suas causas tem de ser incessável, uma vez que o conhecimento científico atual não é suficiente.

O objetivo deste trabalho foi de contribuir para o conhecimento científico da PNES através de um caso de estudo numa exploração intensiva de suínos, tentando desvendar se a alimentação dos leitões no pós-desmame tem influência no aparecimento desta patologia.

Capítulo II – Revisão Bibliográfica

2.1. Principais distúrbios na fase de recria

Os porcos em regime de produção intensiva estão sujeitos a imensas patologias e distúrbios durante o seu período de crescimento. O pós-desmame é considerado o período crítico que define se um animal é eficiente ao nível produtivo e até mesmo determinar a sua sobrevivência (Quinn & O'Driscoll, 2016). A identificação atempada destas patologias é importante no modo de atuação, e em algumas destas a etiologia já está bem definida (tosse; problemas respiratórios; diarreia pós-desmame; entre outras). Contudo, outras requerem mais investigação pelo facto de se tratarem de patologias multifatoriais (dermatite; caudofagia e necrose nas orelhas) e os produtores não conseguem dar a resposta necessária aos desafios apresentados (Quinn & O'Driscoll, 2016).

2.1.1. Diarreias pós-desmame

A diarreia pós-desmame (DPD) é uma preocupação na grande maioria dos sistemas produtivos sendo responsável por perdas animais e económicas grandes. Esta afeta os leitões até 2 semanas após o desmame e provoca desidratação, retarda o crescimento dos animais sobreviventes e a taxa de mortalidade pode ir até 25% dos animais não tratados (Fairbrother J., 2015). A etiologia é bem conhecida e o agente causador é, habitualmente, variantes enterotoxigénicas da bactéria Gram-negativa *Echerichia coli*, que consegue colonizar as células dos enterócitos, através da produção de adesinas. São vastos os fatores que podem preponderar esta infeção, sendo que os principais são as condições ambientais, idade ao desmame, regime alimentar, stress, infeções virais prevalentes e a genética, visto que a infeção só é possível por existirem recetores para estas adesinas (Rhouma et al., 2017).

O tratamento mais comumente utilizado é a colistina, um antibiótico polipeptídico catiónico administrado por via oral. Atua como detergente que se liga e desintegra os fosfolípidos da membrana externa dos bacilos Gram-negativos. Na maioria dos casos resolve o problema e não destrói por completo a flora intestinal, pois não consegue eliminar bactérias Gram-positivas (Guimarães et al., 2014). Porém, são encontradas cada vez mais estirpes resistentes de *E. coli*, sendo que em alguns países a taxa destes indivíduos chega aos 35%. Os animais de produção animal são apontados como os principais reservatórios destas bactérias resistentes (Rhouma et. al, 2017).

2.1.2. Complicações respiratórias

As doenças respiratórias nos suínos são talvez o maior desafio técnico-económico com que a indústria de suínos se depara, originando perdas de efetivo animal numa escala imensurável. Para além disso, as perdas de performance e os custos em tratamentos e planos vacinais acrescidos, são fatores que agravam a situação (Wang et al., 2018). A etiologia é vasta e o tipo de manejo também pode potenciar o aparecimento das mesmas, quando falamos em: efetivos grandes; explorações cujo ciclo vai do nascimento até peso de abate; altas densidades de animais nos parques; vazios sanitários curtos ou inexistentes (Holt et al., 2011). Mas, obviamente, que o fator principal é a prevalência do, ou dos agentes infecciosos existentes dentro do efetivo, sendo que os mais comuns são: o vírus da síndrome reprodutiva e respiratória (PRRS); o vírus de Influenza; *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Pleuropneumonia suína); *Mycoplasma hyopneumoniae* (Pneumonia enzoótica); e a *Pasteurella multocida* (como infeção secundária) (Wang et al., 2018). Um estudo de Bringas et al. (2014) refere que animais com infeções por *M. hyopneumoniae* com lesões pulmonares a nível superior com 25% do seu volume, registaram perdas no ganho médio diário (GMD) de 70 g e o seu custo de produção até abate pode aumentar até 2,7€/porco, devido a custos de medicação e outros, como a permanência durante mais tempo na exploração para atingir o peso de abate. Já outra pesquisa, aponta que se ocorrer uma co-infeção por PRRS juntamente com a *M. hyopneumoniae* o custo pode aumentar até 10 €/porco (Virbac, 2022).

2.1.3. Hérnias

As hérnias são um dos “defeitos” mais regularmente observados na estrutura muscular dos suínos e desenvolve-se numa fase precoce do crescimento, ou seja, na recria. Os dois tipos principais de hérnias são: inguinal e umbilical (Quinn & O’Driscoll, 2016). A primeira ocorre principalmente em machos e caracteriza-se por um aumento do escroto causado pela infiltração do intestino. É uma doença de carácter congénito muito frequente nas raças melhoradas para produção e pode ser observada em 1 a 5% dos animais a partir da 1ª e 2ª semanas de vida. No caso das hérnias umbilicais, ocorre uma disrupção do músculo abdominal e o intestino penetra entre os tecidos e forma um saco que pode ser de tamanho variado. Neste caso, o intestino entra em contacto direto com a pele e forma em muitos casos uma adesão (fusão) com a mesma, o que pode dificultar a digestão do animal provocando oclusão intestinal (Quinn & O’Driscoll, 2016). Os efeitos neste tipo de hérnias são mais severos, sendo que os animais vão ficando cada vez mais prostrados com o passar do tempo graças ao desconforto adjacente. Ademais, estes

devem ser encaminhados para o matadouro o mais cedo possível, para tentar evitar que a rutura do saco herniário possa contaminar a carcaça. Neste caso, a frequência observada varia entre os 0,4 e 1,2% e ocorre, normalmente, entre as 9 e 14 semanas de vida. A etiologia das hérnias umbilicais é essencialmente genética com alguma influência do manejo de ninhadas. O rápido ganho de peso dos leitões, conjugado com o aumento acelerado da estrutura intestinal, provoca em alguns casos esse desfecho (Quinn & O'Driscoll, 2016).

2.1.4. Caudofagia

A caudofagia é um distúrbio comportamental associado ao stress ambiental e traduz-se na mordedura das caudas entre leitões. O corte da cauda ou caudectomia é o procedimento padrão na grande maioria das explorações intensivas de suínos, que tem como objetivo a prevenção dessa mesma caudofagia. É interessante frisar que este comportamento não é observado em condições naturais ou até mesmo noutras espécies no seu habitat natural (Franco A., 2020). Este distúrbio pode ser um bom indicador de bem-estar animal numa dada exploração pecuária, dependendo do grau de alastramento entre lotes. É também considerada uma patologia multifatorial em que os principais fatores são a densidade animal excessiva, a falta de enriquecimento ambiental (brinquedos, palha, renovação do ar, etc) e a presença de animais sem cauda corta. Para além disso, a genética, o género, a presença de sangue na cauda, o peso, a idade, também podem influenciar o aparecimento deste comportamento aberrante (Franco A., 2020). Li et al. (2017) observou que a caudofagia estava diretamente relacionada com o stress crónico dos animais, cujo um dos indicadores são os baixos níveis de fósforo, assim como uma baixa percentagem de imunoglobulinas G no sangue dos animais. A prevalência ronda os 3 a 8% segundo dados recolhidos em matadouro. A caudofagia é, muitas vezes, a porta de entrada para infeções sistémicas através das feridas da cauda e a proximidade com o ânus promove ainda mais esse acontecimento. A nível económico para as explorações, esta patologia representa perdas em matadouro pela rejeição de carcaças devido a inflamações e abscessos em nódulos linfáticos (Franco A., 2020).

2.1.5. Dermatite

A dermatite exsudativa, também conhecida como eczema húmido ou, em inglês, “*greasy pig disease*”, é uma enfermidade reportada há mais de 150 anos e é mais um dos problemas com que muitos produtores a nível nacional se deparam (Victor et al., 2013). A sintomatologia consiste em pequenas feridas, que se vão alastrando por todo o corpo do animal, formando

úlceras. Na maioria dos casos, estas úlceras acabam por formar crostas e sarar por si só. Mas em situações mais severas, em que o sistema imunitário do animal ainda não consegue fazer face à infeção (*Staphylococcus hyicus*), estas úlceras tornam-se exsudativas devido a hiperemia, o que favorece o crescimento de microrganismos patogénicos, seguindo-se a septicemia e posterior morte (Park, 2013a). A etiologia é bem conhecida nos dias que correm e até já foi possível replicar esta doença em laboratório inoculando *S. hyicus* em leitões jovens, porém esta será abordada no próximo capítulo, pois pensa-se que o processo infeccioso das necroses nas orelhas seja muito similar. Esta doença ocorre, frequentemente, no pré ou pós-desmame, até às 8 semanas de vida (Charbonneau G., 2013). Depois desta fase, o sistema imunitário já é mais robusto. As brigas que definem a hierarquia nos parques estão altamente relacionadas com o aparecimento de dermatites, tal como a presença da bactéria nas instalações. O fator ambiental está patente na maioria destas desordens, sendo que ambientes húmidos e quentes são potenciadores de proliferação de microrganismos, como bactérias e fungos. Foi observado que ninhadas de porcas nulíparas estão mais propensas a desenvolver dermatite e está relacionado com a baixa transferência de imunoglobulinas de tipo E (Park, 2011). Quando ocorrem surtos desta doença, a quantidade de animais afetados pode ir até 90% e a mortalidade a valores similares, se não existirem ações preventivas (Martins G., 2013).

2.2. Necrose nas orelhas em suínos

A necrose nas orelhas em suínos, também conhecida como “*Porcine Necrotic Ear Syndrome*” (PNES) é uma patologia comum em explorações intensivas de suínos (Papatsiros, 2012), representada por lesões nas pontas das orelhas de leitões em desenvolvimento, e apesar de não comprometer o crescimento e saúde dos mesmos, deve ser encarado com um problema de bem-estar animal que requer ação/prevenção. Ocorre como resultado de infeções e é frequentemente confundido com comportamento aberrante de mordeduras nas orelhas. Essas infeções podem provocar mais tardiamente as mordeduras por parte de outros leitões no parque, porém, mordeduras espontâneas ocorrem normalmente na margem ventral da orelha, perto de onde a mesma se interceta com a cabeça (White, 2012).

O que desencadeia esta patologia ainda é uma incógnita nos dias que correm. Ao longo dos anos, diversos investigadores tem apelidado esta patologia de variadas maneiras como: “*porcine ulcerative spirochetosis*” (Harcourt, 1973), “*streptococcal auricular dermatitis*” (Maddox et al., 1973), “mordedura das orelhas” (Penny & Mullen, 1976). Mas Richardson et al., (1984) propôs que a mesma se chamasse “Síndrome da orelha necrosada em suínos” traduzindo à letra para português. Mas o que é consenso entre a comunidade científica é que

esta doença é consequência de um processo infeccioso complexo, despoletado por fatores de risco e não apenas puro canibalismo (Park, 2011).

2.2.1. Sintomas

Os primeiros sintomas de PNES são visíveis 6-7 semanas após o nascimento e podem ser vistos nas pontas das orelhas como um pequeno acúmulo de gordura escura (Figura 1), que pode ser confundido com sujeira de fezes. Se raspada essa pequena gordura, é possível normalmente ver uma zona erusivo-ulcerativa na pele que a expõe à entrada de infecções bacterianas (White, 2012).



Figura 1. Início da patologia de PNES na zona circundada a vermelho. (Adaptado de: White, 2012)

Com o passar de poucas semanas a ponta da orelha apresenta uma configuração escura/necrosada (Figura 2), que se pressionada, pode sangrar. Esse sangramento pode atrair à mordedura por parte de outros leitões, causando um hematoma mais alastrado. A progressão leva habitualmente à perda duma significativa parte do ápice da orelha do animal. Chegando a certo ponto, acima das 14 semanas de idade, a infecção cessa o seu alastramento e começa a sarar, deixando a ponta achatada (Figura 3) (White, 2012).



Figura 2. Estadio avançado da patologia de PNES (Papatsiros, 2012).



Figura 3. Ponta achatada resultante da patologia PNES, evidente no pavilhão auricular direito. (White, 2012).

Com a observação de ensaios realizados ao longo dos tempos, constatou-se os seguintes padrões: a contaminação generalizada é vista em ambos os sexos, separados ou misturados; raças de suínos com as orelhas descaídas são mais facilmente afetados, do que as raças de orelhas eretas; apesar de longos tempos de observação em parques com a patologia PNES evidente, não se verifica mordidas por parte de outros leitões, exceto em casos mais avançados em que ocorre sangramento; prevalência constante da patologia numa determinada exploração,

evidencia que o fator “clima” tem pouca influência sobre o aparecimento da mesma (White, 2012).

2.2.2. Fatores negativos da patologia

Não há rejeição das carcaças destes animais sintomáticos em matadouro, porque a infecção é apenas localizada na orelha (White, 2012). Porém o seu valor comercial pode vir a ser reduzido, devido à aparência do animal (Park et al., 2013b), mais ainda no mercado nacional português, onde a orelha de porco é parte gastronómica de muitas regiões.

Em exploração com intenção multiplicadora, animais em que esta patologia tenha avançado ao ponto de ocorrer perda parcial da orelha são, muitas vezes, encaminhados para abate, ocorrendo assim uma perda económica significativa, visto que são mais caros, muito graças ao manejo especializado que recebem, nomeadamente na componente vacinal.

O crescimento e ingestão dos leitões não é normalmente afetado pela PNES. Todavia, em casos extremos, com a evolução para uma artrite séptica ou uma septicemia originada por uma infecção secundária, pode pôr em causa a vida do animal (Quinn & O’Driscoll, 2016).

Fundamentalmente, é um problema de bem-estar animal e que pode desencadear um surto de mordeduras devido ao sangramento ocasionado pela patologia (Quinn & O’Driscoll, 2016).

2.2.3. Prevalência

Existem vários relatos da sua ocorrência em diversas explorações espalhadas pelo mundo e a prevalência ronda, em média os 26%.

Na Polónia, numa exploração de 1800 porcas F1 e 14 varrascos, com lotes semanais de 95 porcas na maternidade (o que deve originar cerca de 1200 leitões por lote), cerca de 15% dos leitões após 3 semanas do desmame, contêm sintomas de PNES. É importante referir que as porcas não estavam até a data, a ser vacinadas para circovírus suíno estirpe 2 (PCV2) (Pejsak et al., 2011).

Um estudo mais alargado na Dinamarca, abrangendo 90 suiniculturas num total de 150 mil porcos de engorda, reportou que a PNES foi de todas as doenças observadas, a que demonstrou maior índice de prevalência (30%) (Petersen et al., 2008). Superior a patologias como a coxeira, tosse e outras doenças de pele como a dermatite, que não ultrapassaram os 15% de prevalência individualmente (Petersen et al., 2008).

Outro estudo dinamarquês, apenas numa única exploração, determinou que em 269 parques de recria, escolhidos aleatoriamente e em diferentes fases de crescimento, a prevalência média foi

de 14%. Porém, nos 48 parques mais afetados, a mesma era de 46%. Constataram também que: não foi encontrada correlação entre parques muito sujos e a PNES; independentemente da idade, a densidade alta por parque pode estar relacionada com o aparecimento de PNES, visto que os índices de agressão aumentam; leitões fracos e pequenos não tem maior probabilidade de contrair PNES (Busch et al., 2015).

Uma investigação levada a cabo na Irlanda relativamente a problemas no bem-estar animal, analisando 12% das suiniculturas do país, observou-se uma taxa de prevalência de 9,1% em animais entre as 8 e 12 semanas de idade. Esta taxa foi apenas superada pela caudofagia na fase de engorda, com 10,5% dos animais observados (van Staaveren et al., 2018).

Numa exploração orgânica na Suécia, foi registada 50 a 70% de prevalência em leitões pós-desmame, num período de observação de 2 anos. É importante realçar que estes leitões tiveram acesso ao ar-livre a partir das 2 semanas de idade (Pringle et al., 2009).

Blocks et al., (1994) notou uma prevalência 28,3% de PNES na Holanda, num total de 21 explorações suinícolas observadas por um período de 2 anos.

Todos estes relatos indicam que a prevalência é bastante variável dependendo do sítio, altura do ano, pecuária, ou até dentro da própria pecuária (Malik et al., 2021a).

Não foram encontrados relatos fundamentados da prevalência desta patologia em Portugal.

2.2.4. Possíveis causas infecciosas

A etiologia é ainda pouco conhecida, sendo que vários “culpados” têm sido apontados (Park et al., 2013b). Foram isolados diferentes patógenos junto aos tecidos necrosados da orelha, entre estes destacam-se o *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus aureus* (Park et al., 2013b), o *Streptococcus suis* (Maddox et al., 1973) ou até o vírus responsável pela síndrome do emagrecimento progressivo pós-desmame (PMWS), o PCV2 (Zlotowski et al., 2008).

A hipótese principal apontada por diversos investigadores como a primeira causa de PNES é algum dano causado na orelha, que pode advir de lutas; impactos contra as paredes das celas ou contra companheiros de parque; arranhões, etc. Estes danos causados facilitam a entrada por parte de bactérias e outros microrganismos, que protegidos por uma camada gordurosa à superfície da pele (1º sintoma) promove o ambiente perfeito para a multiplicação das mesmas (White, 2012). É especulado que a razão por trás desta proliferação seja a má perfusão sanguínea aos tecidos do ápice do pavilhão auricular. Por sua vez, o alastrar da infeção causa trombozes nos pequenos capilares que irrigam essas zonas da orelha, provocando isquémia. Por

fim surge a necrose que se expande até áreas inferiores da orelha com maior capacidade no fornecimento de sangue, evitando que a infecção se continue a propagar (White, 2012).

2.2.4.1. Infecção por Estafilococos

As bactérias *S. hycus* e *S. aureus*, são os microrganismos com potencial infeccioso mais frequentemente isolados destas lesões nas orelhas (Park et al., 2013b; Richardson et al., 1984). Pensa-se que são os responsáveis pela infecção primária, mas precisam que haja um trauma inicial na epiderme, para se infiltrarem (Malik et al., 2021a). Estes patogêneos são também responsáveis pela patologia da epiderme exsudativa (EE) em suínos e *staphylococcal scales skin syndrome* (SSSS) em humanos. Sabe-se que têm a capacidade de produzir toxinas exfoliantes, cujo código genético se encontra no seu genoma: Exhs no caso das *S. hycus* e ETs no caso das *S. aureus*. Atuam como “tesouras” na epiderme dos mamíferos, destruindo as caderinas desmossomais (desmogleína 1 em suínos), proteínas que servem de união entre as células epiteliais, provocando úlceras, crostas e exsudados (Malik et al., 2021a). É importante referir que os suínos são portadores na pele de bactérias do género *Staphylococcus*. A diferença entre uma pecuária ser ou não prevalente neste tipo de doenças cutâneas, pode estar relacionado com a virulência da estirpe em causa, assim como os diversos fatores de risco abordados mais adiante no ponto 2.3. (Park, 2011).

2.2.4.2. Infecção por Estreptococos

Maddox et al. (1973) também apontava outro *Coccus* como a possível bactéria causadora desta doença, a β -hemolítica estreptococos. Conhecida por causar inúmeras doenças tanto em humanos como animais, tais como as do foro cutâneo como o *Impetigo*. A mais conhecida é a amigdalofaringite, doença do trato respiratório superior, comum em crianças (Stevens & Bryant, 2016). Observada várias vezes microscopicamente, em tecido necrosado das orelhas, por Richardson et al. (1984) e Pringle et al. (2009), esta bactéria não tem a capacidade de sobreviver na pele não danificada, ao contrário dos estafilococos (Richardson et al., 1984), mas consegue proliferar em lesões e pode advir da boca dos leitões, causando celulite e posterior necrose (Malik et al., 2021a).

2.2.4.3. Infecção por Espiroquetas do gênero *Treponema*

Outra das hipóteses inicialmente lançada por Harcourt R. (1973), apontava para as espiroquetas como potenciais causadores da patologia PNES, isto porque foram observados aglomerados das mesmas entre o tecido inflamatório granuloso e as úlceras na epiderme. Mais tarde, Richardson et al. (1984) voltou a observar esta classe de bactérias num leitão de 38 examinados histologicamente, numa lesão em estadio moderado. Com o intuito averiguar esta tese, Pringle et al. (2009) conseguiu isolar uma espécie desconhecida de espiroquetas do gênero *Treponema* sp. (designada por T A4) através de 1 de 4 amostras recolhidas de orelhas necrosadas. Constatou também a presença de bactérias deste gênero na saliva dos leitões em crescimento, porém, apesar das semelhanças genéticas, não foram as mesmas que a espécie T A4 isolada da lesão nas orelhas. Argumentou ainda que a razão de apenas se ter conseguido encontrar um isolado de espiroquetas, pôde dever-se à dificuldade que estas têm em multiplicar-se em ambientes competitivos com outras bactérias nos meios de cultura e também existe a possibilidade de as recolhas de tecido terem sido demasiado superficiais, pois nos exames histológicos estas foram encontradas em camadas mais profundas do tecido da orelha. Por último, Karlsson et al. (2017), mais recentemente tentou reproduzir a infecção por *Treponema pedis* T A4, inoculando cinco leitões. Contudo, nenhum dos animais apresentou sintomas clínicos de PNES durante 56 dias, sendo que os mesmos foram novamente inoculados 29 dias após a primeira vez. Curiosamente, este estudo demonstrou que a colonização de treponemas na gengiva dos leitões ocorre na mesma idade em que os primeiros sintomas de PNES são propícios a surgir e sabe-se que esta espécie T A4 carrega consigo genes de virulência.

2.2.4.4. Trombose por Circovírus tipo 2 e *Mycoplasma*

O PCV2 também é apontado como possível fator de propensão ao desenvolvimento de PNES (Papatsiros, 2012; Pejsak et al., 2011). Ambos os autores demonstram experimentalmente a redução da prevalência das necroses após a vacinação do efetivo reprodutor. Este vírus causa imunossupressão, principalmente através do mau funcionamento das células dendríticas (células apresentadoras de antígeno), que permitem a sua multiplicação sem ser degradado (Pejsak et al., 2011). Está comprovado cientificamente que leitões nascidos de porcas com deficiente imunidade contra este vírus, estão muito mais suscetíveis a contrair outras infeções, como é o caso dos micoplasmas (*M. suis*) (Pejsak et al., 2011). Por sua vez, a infecção por *M. suis* provoca aglutinação de complexos imunológicos em vasos sanguíneos, podendo causar

tromboses em pequenos capilares, como é o caso nas orelhas dos leitões e é aqui, que segundo estes investigadores a necrose pode ocorrer, devido a vasculite séptica (Malik et al., 2021a). Contudo outros autores falharam em encontrar evidências da presença de PCV2 e micoplasma em animais afetados por PNES noutros contextos experimentais (Lang et al., 2010; Weissenbacher-Lang et al., 2012).

2.3. Fatores de risco

Com uma etiologia ainda por definir, a PNES é vista mais frequentemente como uma doença multifatorial em que os fatores de sanidade, manejo, ambientais e de nutrição podem influenciar o seu aparecimento (Park, 2011).

A nível de sanidade, torna-se óbvio que uma exploração cujas práticas de limpeza e desinfecção não são as melhores, torna mais provável o aparecimento desta doença na recria, principalmente se ocorrer a prevalência de outras patologias, como por exemplo PMWS. É importante que sejam cumpridos os vazios sanitários sempre que seja logisticamente possível (Park, 2011).

O manejo também desempenha um papel importante no desenrolar desta patologia (PNES). A idade ao desmame é mencionada por alguns autores como fator de propensão ao aparecimento de PNES (Nuscience, 2015; Park et al., 2013b). Num estudo de Park et al. (2013b), reparou-se que as explorações suínolas com maior prevalência de PNES correlacionavam-se com uma idade ao desmame mais precoce (20,7 dias), comparativamente às explorações controlo cujo a média de idade ao desmame era de 28,6 dias. Esta possibilidade pode dever-se, segundo a Nuscience (2015), a que os leitões de idades inferiores não lidem com o stress de desmame tão bem, afetando a sua ingestão alimentar. A densidade animal é outro dos fatores de manejo que tem grande impacto sobre o *outcome* desta patologia, isto porque promove a competição alimentar, o que se traduz em brigas. Estas causam ferimentos por todo o corpo do leitão, nomeadamente no ápice e margem do pavilhão auricular (Busch et al., 2008; Park et al., 2013b). Busch et al. (2008) e Park et al. (2013b), demonstraram a relação entre a baixa disponibilidade de comedouros e bebedouros e o aparecimento de PNES, muito possivelmente, porque a competição e disputa por alimento promove a briga.

A genética também está relacionada com o comportamento agressivo dos animais, mais concretamente o hábito de mordedura (Malik et al., 2021a).

Os fatores ambientais são igualmente uma peça chave neste puzzle multifatorial. A humidade alta está altamente relacionada com o aparecimento das necroses (Busch et al., 2008; Park et al., 2013b), muito possivelmente pelo facto de determinados agentes infecciosos se

disseminarem melhor nestes ambientes húmidos, como é o caso os estafilococos e estreptococos (Dunklin & Puck, 1948). A temperatura alta dentro da sala também é considerada um fator de risco primeiramente porque permite maior saturação do ar e segundo porque cria um ambiente stressante para os leitões (Busch et al., 2008; Malik et al., 2021a). Uma boa ventilação juntamente com boas estruturas de fluxo de ar são uma ferramenta fundamental para a criação de um ambiente saudável para os animais, evitando a fraca qualidade do ar (Malik et al., 2021a). Porém, o uso de chão ripado sem o uso de palha aumenta a probabilidade do desenvolvimento desta patologia, uma vez que promove as correntes de ar, o que leva ao arrefecimento das extremidades como é o caso das orelhas (Quinn & Driscoll, 2016). Este processo causa a vasoconstrição, o que pode potenciar as trombozes através da deposição de imuno-complexos, consequência de uma possível infeção (Park et al., 2013b). É curioso que o estagnar da doença, o sarar e cura da orelha acontece normalmente acompanhada de uma mudança dos leitões de instalação para outra (ex: recria para engorda) (White, 2012).

Por fim, os fatores nutricionais. Alguns investigadores apontam as micotoxinas e endotoxinas como possibilitadores do desenvolvimento de PNES (Malik et al., 2021b; Park et al., 2013b; Weissenbacher-Lang et al., 2012). Existem vários tipos de micotoxinas, produzidas por diferentes fungos que se proliferam na maioria dos cereais (Borba, 2011). No caso em estudo, as mais relevantes são as aflatoxinas, os tricotecenos, as ocratoxinas e os alcaloides ergotamina. As três primeiras têm capacidades de imunossupressão, através da diminuição da atividade de linfócitos T e B e a produção de anticorpos (Malik et al., 2021a). Os tricotecenos tem efeitos reportados de dermatite (Teixeira & Simões, 2013), sendo que o desoxinivalenol (DON) causa fragilidade na barreira gastrointestinal dos leitões (Nutrex, 2021). Os alcaloides ergot causam normalmente vasoconstrição e vasculite, que nas orelhas dos suínos pouco irrigadas pode levar a isquemia e, por fim, necrose. Esta patologia é conhecida como ergotismo gangrenoso (Malik et al., 2021a). Já as endotoxinas são lipopolissacarídeos que se encontram nas membranas externas de algumas bactérias gram-negativas e só são libertadas após a degradação membranar (Louro A., 2009). Posto isto, a água pode ser uma fonte dessas mesmas endotoxinas, daí a importância de uma correta desinfecção da mesma. Um estudo levado a cabo por Weissenbacher-Lang et al. (2012) detetou várias micotoxinas e alcaloides em amostras de ração de 9 explorações pecuárias diferentes, contudo apenas a zearalenona (ZEA) e o DON se encontraram em concentração biologicamente prejudiciais. Apesar disso, apenas foi possível correlacionar as altas concentrações de DON na ração, com alterações microscópicas numa fase inicial da PNES (necrose da epiderme, crescimento bacteriano em superfície danificadas ou infiltração de histiócitos), assim como a vasculite em fase aguda com a ergotamina. O autor menciona

ainda que algumas micotoxinas podem atuar sinergeticamente, explicando assim que mesmo em baixas concentrações, as toxinas possam ter efeitos negativos no metabolismo animal. Outro estudo realizado na Áustria não conseguiu descartar a hipótese das endotoxinas encontradas em 15 animais analisados, estarem relacionadas com o início da infecção nas orelhas, apesar de as mesmas não se encontrarem em níveis críticos há altura da recolha do sangue dos animais afetados (Lang et al., 2010). Recentemente, foi testada a hipótese de usar um desintoxicante de micotoxinas na ração, ou seja, uma molécula que se liga às micotoxinas impossibilitando-as de se ligarem aos diferentes recetores enzimáticos do metabolismo dos animais. Todavia, a prevalência da PNES não diminuiu significativamente, passando de 25% apenas para 22%, sendo que o autor salientou a possibilidade de ração estar levemente contaminada (Malik et al., 2021b). Mais estudos terão de ser realizados para confirmar a implicação das micotoxinas no desenrolar da patologia PNES. Ainda no que toca à parte alimentar, a ração seca é outro elemento importante e que aumenta a suscetibilidade ao desenvolvimento da doença comparativamente ao uso de ração húmida (Malik et al., 2021a).

2.4. Terapêutica

Os tratamentos para a PNES são escassos e economicamente inviáveis, contudo existem algumas possibilidades. O antibiótico albamicina mostrou-se altamente eficaz quando aplicado numa fase inicial da doença (White, 2012). Este fármaco atua sobre a enzima topoisomerase 2 bacteriana, responsável pelo desenrolar das cadeias de ácido desoxirribonucleico (DNA) afetando assim a sua replicação (Pereira O., 2014). É usado em humanos em infeções por *Staphylococcus epidermidis*, sendo que também usada contra bactérias Gram-negativas (Pereira O., 2014). As penicilinas mostram-se pouco eficazes devido à grande percentagem de bactérias resistentes (Romero et al., 2018). Licomicina e florfenicol são também outras possibilidades de antimicrobianos (White, 2012).

2.5. Prevenção

Evitar os fatores de risco que já foram mencionados anteriormente é um passo fundamental para prevenir o aparecimento de necroses das orelhas em jovens suínos, particularmente desmames calmos, em que se minimize ao máximo os traumas nas orelhas causados por arranhões e fricções, pois estes são a porta de entrada a possíveis infeções (Quinn & Driscoll, 2016). A densidade animal também é um fator crucial para diminuir a competição e as brigas. Evitar as correntes de ar, principalmente em chão ripado, usando placas de plástico ou borracha

onde os animais consigam criar um ninho durante a noite. Aumentar a disponibilidade de acesso a alimento pode também fazer a diferença (Quinn & Driscoll, 2016).

Tal como foi já mencionado, animais doentes (PCV2, PRRS, PMWS, *M. suis*) são mais suscetíveis a desenvolver PNES. Assim sendo, o tratamento destas patologias primárias pode resolver ou prevenir o desenvolvimento das necroses (Park, 2011; White, 2012).

Qualquer distração para os animais que evite o comportamento mais agressivo dos mesmos, baixando os níveis de stress é importante. Brinquedos de borracha, palha (quando o pavimento o permite), cordas (Figura 4) são algumas das possibilidades no acréscimo de bem-estar animal (White, 2012).



Figura 4. Brinquedos utilizados na fase de recria. Adaptado de (Camerlink I., 2022)

Óleo usado, de origem sintética (mecânica), é utilizado para cobrir os leitões com uma película gordurosa que proteja pequenas úlceras na derme. É um tratamento comumente utilizado na prevenção de dermatites, e pensa-se que possa ser também eficaz contra a PNES (Park, 2011).

2.3. Papel do intestino no sistema imunitário do leitão

Tal como mencionado anteriormente, o desmame é um momento chave na vida de um leitão. Para além do stress ambiental e social, a nutrição poderá ter consequências a nível imunológico (Capoulas J., 2015). O animal que até então era totalmente dependente do leite materno para o seu crescimento, vê-se forçado a mudar o seu regime alimentar para proteína e carboidratos de origem vegetal. Esta alteração quebra a homeostasia intestinal, de um órgão que, muitas vezes,

ainda não está completamente desenvolvido (Peng et al., 2021). Um estudo de Li et al. (1991), demonstrou que a produção de anticorpos foi 1,7 vezes superior em leitões cuja nutrição incluía bagaço de soja como fonte proteica, relativamente a leite desnatado. A soja pode causar problemas gastrointestinais adjacentes aos seus compostos antinutricionais como é o caso da inibidores de tripsina (protease), lectina (aglutinação de eritrócitos e adesão às paredes do duodeno), saponina (hemólise e permeabilidade da mucosa intestinal) e proteínas alergénicas (Capoulas J., 2015; Leite et al., 2012).

É importante que o sistema imunitário esteja preparado para os desafios que irá encontrar em fase de recria. O colostro fornece uma imunidade passiva até cerca de 21 dias de vida, sendo que a partir dessa idade, as defesas imunitárias suportam-se essencialmente nas Imunoglobulinas A (IgA) transferidas por o leite materno e que atuam essencialmente na mucosa intestinal (Domingues A., 2017). A imunidade ativa é atingida por volta dos 28 dias, quando o próprio organismo começa a produzir os seus próprios anticorpos (Capoulas J., 2015). O aparelho digestivo dos suínos sofre diversas alterações ao longo do seu crescimento, tanto a nível fisiológico como microbiológico (Domingues A., 2017). O estômago e o cólon aumentam o seu volume, enquanto o intestino delgado diminui, ocorrendo nos primeiros dias após o desmame (Capoulas J., 2015). Estes efeitos são independentes da idade de desmame, segundo Kelly et al. (1991). A mucosa perde capacidade de absorção de nutrientes, graças a uma atrofia no tamanho das vilosidades. Quanto menor o tamanho das vilosidades e maior a profundidade das criptas, menor é área de absorção, assim como a quantidade de enzimas digestivas libertadas e consequentemente, os índices de absorção diminuem (Kelly et al., 1991). A assimilação de água e eletrólitos no intestino grosso também é afetada negativamente (Domingues A., 2017). Segundo diversos autores, pensa-se que esta alteração morfológica se deve ao extenso jejum por que passam a maioria dos leitões no pós-desmame. Alterações no metabolismo, através da mobilização de gorduras e de glicogénio, reduz a renovação celular necessária para que a mucosa funcione no seu estado *optimal* (Capoulas J., 2015). O pH gástrico sofre um aumento devido à menor secreção de ácido clorídrico pelo estômago. Para além de afetar a motilidade gástrica negativamente, também aumenta a probabilidade de sobrevivência de agentes patogénicos, como a *E. coli* (Domingues A., 2017).

A colonização do aparelho entérico dos animais tem um papel importante no desenvolvimento e maturação do sistema imunitário do intestino e atua como uma barreira contra antigénios nocivos (Wang et al., 2018). Esta acontece graças ao contacto dos recém-nascidos com os microrganismos presentes no canal de parto, assim como através das fezes da progenitora durante o seu período em aleitamento. A composição da flora intestinal é orientada pelo tipo de

nutrição e por fatores de stress (Peng et al., 2021). Até aos 7 dias de vida, existe uma predominância de *Lactobacillus*, que ajudam a decompor a lactose e protegem as vilosidades com a produção de um muco. Dos 7 aos 21 dias, 95% do microbioma intestinal é anaeróbico: 54% de Firmicutes, 38,7% de Bacteroidetes e 4,2% de Proteobacterias. Depois do desmame esta proporção altera-se, sendo que o microrganismo mais predominante passa a ser as Bacteroidetes (59,6%), muito possivelmente porque são mais eficientes a degradar polissacarídeos como é o caso das hemiceluloses (Peng et al., 2021), presentes nas paredes celulares dos tecidos vegetais.

Capítulo III - Material e métodos

3.1. Descrição da exploração

O presente estudo foi realizado na exploração pecuária da empresa Ftpgm – Produtos Agrícolas e Agropecuários Lda, localizada em Mealha, freguesia de Canelas e concelho de Arouca, entre o período de 2 de novembro de 2020 e 28 de dezembro de 2020. Esta exploração intensiva é um centro de multiplicação de fêmeas F1 (Large White x Landrace), sendo que a linhagem pura utilizada é de Large White da casa dinamarquesa de genética DanBreed, enquanto que a linha sintética Landrace provém de centros de inseminação como o AIM CIALA, S.A., entre outros. Estas fêmeas F1 são produzidas com o objetivo de fornecer alguns produtores pertencentes à Agrupalto (Associação de Produtores Agropecuários S.A.), as suas reprodutoras matrizes, sendo estas vendidas com uma média de 95 kg das 18 às 23 semanas. A exploração detém um efetivo de aproximadamente 650 fêmeas Large White, produzidas em ciclo fechado e em bandas de 3 semanas de intervalo.



Figura 5. Visão aérea da exploração de Mealha e os diferentes pavilhões.

Legenda:

A - Engorda

B - Gestação

C - Lagoa

D - Maternidades e
Recrias

A parte produtiva da exploração é composta por: duas maternidades, duas recrias, gestação, quatro engordas, varrascaria e quarentena.

As maternidades são divididas em duas salas conectadas, com 44 celas cada uma e dois corredores centrais. Cada cela tem uma área útil de 4,2 m², que inclui um comedouro para a reprodutora, um bebedouro em concha e outro em tigela para o leite. É posteriormente colocado um comedouro para *creep-feeding* dos leitões que se fixa ao chão ripado. Relativamente à ventilação das salas, esta é feita com 4 ventiladores por cada sala e 6 janelas.



Figura 6. Sala de maternidades da exploração (Foto original).

As recrias são repartidas em 4 salas idênticas, cada uma com 16 parques pequenos de 3,5 m², que incluem um comedouro grande e dois bebedouros em concha de inox. A gestão do espaço (dimensão dos parques) é manipulável, no sentido em que é possível unir os parques e a vantagem é o aumento da área com a retirada do corredor central. Cada sala tem 2 janelas frontais com abertura automática, 2 traseiras e 1 ventilador.



Figura 7. Uma das salas de recria da pecuária da FTPGM (Foto original).

A gestação é dividida em 2 setores: o primeiro setor com 3 filas de 81 celas de baias e mais uma fila de 32 celas duas-a-duas. Neste setor encontram-se as porcas desmamadas juntamente com as porcas novas puras (Large White), onde permanecem até aos 35 dias de gestação. Já o segundo setor é constituído por 4 parques de gestação, com duas máquinas de alimentação automáticas da marca Nedap por cada parque, com capacidade para aproximadamente 90 porcas reprodutoras. Estas permanecem no parque até aos 107 dias de gestação.



Figura 8. Celas de baias da gestação (Foto original).

Das 4 engordas, três têm a finalidade de receber as F1 e encontram-se fisicamente separadas, num setor à parte da exploração. A outra engorda, que se encontra no mesmo setor de todo o sistema produtivo, recebe essencialmente as fêmeas puras Large White, que irão fazer parte, após uma seleção cuidada (padrões reprodutivos), do efetivo de renovação. Os restantes animais são transferidos das recrias para as engordas às 9 semanas de idade, onde permanecem até à altura da sua venda (± 6 meses). As engordas de F1's são compostas por 2 pavilhões cada uma, com 34 parques de 16,4 m² por pavilhão. A engorda das futuras reprodutoras de linha pura contém 32 parques também com áreas idênticas.

A varrascaria possui 8 parques individuais de 8,2 m², com comedouro grande de PVC (policloreto de vinilo) com dispensador. Este edifício tinha como propósito manter alguns machos puros da raça Landrace para fazer recolha de sémen, de forma a controlar com mais facilidade a gestão de *stocks* de sémen. No entanto, nos dias que correm este pavilhão é apenas usado para abrigar as fêmeas de refugio para abate.

A quarentena inclui 5 parques de 3,7 m², com a principal finalidade de receber animais que entrem na pecuária, como é o caso de fêmeas puras Large White vindas da Dinamarca, cujo índice genético é superior à das presentes na exploração. No quotidiano desta pecuária é também usado como local de armazenamento de rações, leite em pó e outros produtos de auxílio à produção.

As normas de biossegurança na presente exploração são muito apertadas. Exemplos disso são: a toma de banho por parte de todos os funcionários aquando da entrada na exploração; apenas o camião exclusivo da exploração entra nas instalações de embarque após lavagem e vazio sanitário de no mínimo 48 horas; desinfeção das botas precedendo a entrada em qualquer pavilhão; dupla vedação nas imediações da exploração, definindo uma área limpa e semi-limpa; botas diferentes para a zona limpa e semi-limpa; roupa descartável para quem entra na zona semi-limpa; livro de visitas que especifica quando e qual o último contacto com suínos; não é permitido o consumo de qualquer carne de porco, até mesmo processada (ex: fiambre), dentro da exploração (cozinha); obviamente é aplicada a prática do sistema de produção tudo fora – tudo dentro.

Todos estes procedimentos permitem que a exploração de Arouca seja indemne a todas as doenças de declaração obrigatória, incluindo a de Ausjeszky, ao qual detém a classificação A5 de acordo com o Plano de Controlo e Erradicação da Doença de Ausjeszky (PCEDA). Ainda assim, o plano sanitário contempla análises serológicas de rastreio (de 2 em 2 meses) às principais doenças infectocontagiosas nos suínos em Portugal: Aujeszky, Glasser, Parvovirose, PCV tipo 2, PRRS, Pleuropneumonia, Pneumonia suína e Rinite atrófica. São também realizadas análises histopatológicas a fetos mumificados de qualquer porca que tenha parido no mínimo 3 mumificados.

O plano sanitário inclui ainda o controlo mineral e microbiológico da água consumida pelos animais, que é feito de forma frequente, assim como o controlo semanal contra roedores. O controlo de vetores (insetos) com inseticidas é feito com mais frequência na estação quente do ano.

Segundo o NREAP, a exploração é nomeada como de classe 1 com capacidade para 241,05 cabeças normais (CN) para a atividade de seleção/multiplicação e 241,65 CN para recria/acabamento, segundo a licença n.º 70/N/2017 de 22/02/2017, emitida nos termos do Decreto-lei 81/2013 de 14 de Junho (S.O.S. Paiva, 2019). É importante realçar que as medidas de bem-estar animal vão para além do que é exigido por lei.

Relativamente ao Plano de Gestão dos Efluentes Pecuários (PGEP), a exploração tem uma capacidade de retenção de aproximadamente 1200 m³ de chorume. As fossas são independentes

e variáveis em número de acordo com a dimensão dos pavilhões. O chorume como subproduto da produção animal desta exploração tem 3 destinos finais:

- Segue para a separadora de sólidos/líquidos.
- O líquido é encaminhado para uma lagoa, onde é posteriormente retirado por um caminhão-cisterna para regar terrenos de pastagem do proprietário.
- O estrume é depositado num compartimento específico e resguardado, onde é recolhido *a posteriori* por agricultores locais.
- O chorume proveniente dos tanques de retenção também é, algumas vezes, usado pelo proprietário para preparações do solo que precedem a sementeira de cereais.

3.2. Maneio geral e Regime alimentar

O maneio das porcas matrizes desta exploração acontece na seguinte ordem: as reprodutoras são desmamadas aos cerca de 28 dias de amamentação (sábado). As porcas que seguem para refugo são as de 6 barrigas, porcas com baixos índices reprodutivos ou com problemas morfológicos (coxas, tetos roídos, etc). Após o desmame, são tratadas com oxitetraciclina, um antibiótico pertencente ao grupo das tetraciclina que inibe a síntese proteica e tem função bacteriostática (Guimarães et al., 2014). Este é usado para tratar algumas diarreias subclínicas (segunda-feira). Se o desmame ocorreu na estação quente, as porcas são também injetadas com Peforelina, um análogo de GnRH (Hormona libertadora de gonadotrofinas) com o intuito de facilitar/induzir o cio nestas porcas. Até serem inseminadas, estas porcas recebem uma ração extra diária de 1,5 Kg juntamente com 150 gramas de Dextrose (Anexo 1). Após 5 dias, a maior parte entrará em cio (quarta-feira) e são inseminadas com sémen de varrascos Landrace da genética da Danbreed. Juntam-se a este lote, marrãs até perfazer um lote de aproximadamente 92 porcas. Após 21 dias são ecografadas para confirmar se se encontram gestantes. As porcas gestantes são movidas aos 35 dias para o segundo setor, onde permanecem até aos ± 107 dias onde por último são colocadas nas maternidades. E o ciclo reinicia-se.

A alimentação das porcas adultas apenas difere no período de lactação. A composição das mesmas pode ser encontrada nos Anexos 2 e 3.

Os leitões ficam com as progenitoras até aos 28 dias. O maneio de limar os dentes e cortar a cauda é feito normalmente um dia após o nascimento. No dia do desmame (sábado), estes permanecem nas maternidades, mas as placas traseiras das mesmas, são retiradas para permitir a socialização entre os pequenos suínos. Este processo permite que a sua entrada na recria não cause tanto stress e evite alguma parte das rixas. Na segunda-feira, estes são deslocados para as

recrias, onde é feita a sexagem e seleção por tamanhos. Este lote de animais permanece na recria durante 5 semanas, onde são transferidos para a engorda com 9 semanas.

É usada uma ração de pré-iniciação, isto é, um alimento de grande palatibilidade, e de extrema qualidade nutricional, que estimula a adaptação digestiva dos leitões e promove o crescimento rápido. É utilizado até às duas semanas de recria (Tabela 1) e, posteriormente, passam a alimentar-se com a ração de iniciação (Tabela 2). É uma ração de qualidade ligeiramente inferior (menos dispendiosa), originada essencialmente através de cereais como a soja, milho, entre outros.

Tabela 1. Composição e valor nutritivo do *pre-starter* “Suilac Pro”. * por ordem decrescente de incorporação

	Valor Nutritivo (%)	Composição em Aditivos por Kg	
Proteína Bruta	19	Vitamina A	12000 U.I.
Gordura Bruta	5,7	Vitamina D3	2000 U.I.
Celulose Bruta	2,4	Vitamina E	20 mg
Metionina	0,5	Óxido de zinco	100 mg
Lisina	1,45	Quelato de zinco	125 mg
Cinza Total	5,8	Ferro	100 mg
Cálcio	0,7	Manganês	45 mg
Fósforo	0,57	Cobre	144 mg
Lactose	3,6	Iodo	1 mg
Composição em Matérias-Primas *		Selenito	0,14 P.P.M
Milho OGM, Bagaço de Soja, Trigo, Cevada, Soro de leite, Fosfato monocálcico, Carbonato de cálcio, Óleo de soja, sal.		Selénio	0,06 P.P.M
		6-Fitasa	500 FTU

U.I. (Unidade Internacional); P.P.M (Partes por milhão); FTU (Unidade de fitase)

Tabela 2. Composição e valor nutritivo do *Starter* “Suilac Pro”. * por ordem decrescente de incorporação

Valor Nutritivo (%)		Composição em Aditivos por Kg	
Proteína Bruta	18	Vitamina A	15000 U.I.
Gordura Bruta	4	Vitamina D3	2000 U.I.
Celulose Bruta	3,5	Vitamina E	40 mg
Metionina	0,5	Óxido de zinco	100 mg
Lisina	1,27	Quelato de zinco	-
Cinza Total	5	Ferro	100 mg
Cálcio	0,8	Manganês	60 mg
Fósforo	0,53	Cobre	150 mg
Sódio	0,2	Iodo	1 mg
Composição em Matérias Primas *		Selenito	0,14 P.P.M
Milho OGM, Bagaço de Soja, Trigo, Cevada, Soro de leite, Fosfato monocalcico, Carbonato de cálcio, Óleo de soja, sal.		Selénio	0,06 P.P.M
		6-Fitasa	1500 FYT

U.I. (Unidade Internacional); P.P.M (Partes por milhão); FTU (Unidade de fitase)

3.3. Plano Profilático

No que toca ao plano profilático dos leitões este compreende as seguintes administrações apresentadas na Tabela 3. A vacina contra a bactéria *Lawsonia intracellularis* é decorrente de um surto de diarreias de sangue que ocorreu no passado. Desde então, não houve mais indícios da prevalência deste agente patogénico na exploração. A tulatrumicina é aplicada à saída da recria, com o objetivo principal de evitar problemas de *root foot* ou em português, pé podre. São infeções dos cascos muito comuns nesta raça e, especialmente, nesta genética dinamarquesa (Danbreed). É importante referir no contexto deste estudo, que a exploração não contempla casos positivos de PCV2.

Tabela 3. Plano profilático para leitões aplicado na exploração de Mealha.

Idade	Medicamento/ Vacina	Dose (ml)	Via de administração
1º a 2º dia	Ferro (Gleptafer®)	1 ml	IM pescoço
21º a 28º dias	Porcilis® PCV ID	0,2 ml	ID pescoço
55º a 60º dia	Porcilis® Lawsonia	2 ml	IM pescoço
63º a 70º dia	Tulatrumicina (Draxxin)	0,5 ml	IM pescoço

Relativamente à vacinação das reprodutoras, as porcas nulíparas são vacinadas até à sua puberdade contra as doenças de circovirose, gripes (H1N1, H3N2 e H1N2), mal rubro, parvovirose, leptospirose, clostridium e glasser. Apesar de não haver casos positivos para a maioria destas doenças, excetuando a parvovirose, o facto de ser uma exploração multiplicadora implica que esta tenha de estar isenta da maioria das efemeridades que possam causar decréscimos de produtividade, tanto à própria exploração como aos seus clientes.

Após a primeira cobertura, as vacinações são essencialmente para evitar problemas de diarreias neonatais (coliformes, colestridium) e também de manter a imunidade das porcas ao PCV2 e parvovírus (Tabela 4).

Tabela 4. Plano profilático para reprodutoras e futuras reprodutoras na exploração de Mealha.

Estado Fisiológico	Idade (semanas)	Vacina	Dose (ml)	Via de administração
Vazia	23	Multivac® 9 + Respiporc	2 + 2	IM pescoço
Vazia	25	EryParvoLepto + Ingelvac® Circoflex + Porcillis® Glasser	2 + 1 + 2	IM pescoço
Vazia	27	Multivac® 9 + Respiporc	2 + 2	IM pescoço
Vazia	29	Porcilis® EryParvoLepto + Porcillis® Glasser	2 + 2	IM pescoço
Gestante (primípera)	7	Porcilis® Coliclos	2	IM pescoço
Gestante (primípera)	10	Porcilis® Coliclos	2	IM pescoço
Gestante	13	Porcilis® Coliclos + Multivac® 9	2 + 2	IM pescoço
Amamentação pós-parto	1 a 2	Porcilis® EryParvoLepto	2	IM pescoço
Amamentação pós-parto	3	Porcilis® PCV ID	0,2	ID junto à vulva

3.4. Procedimento Experimental

Foi realizado um procedimento experimental na fase de recria, com um intuito de analisar se uma alimentação mais rica em antioxidantes e com adição de um desintoxicante ao nível das mico e endotoxinas, poderia reduzir a incidência das necroses nas orelhas dos leitões, relativamente às rações pré-iniciação e iniciação tradicionais.

Neste sentido, foram realizadas 2 experiências similares, apenas em espaços temporais diferentes: a primeira iniciou-se a 2 de novembro de 2020 e contou com uma amostra de $n=581$ leitoas; a segunda começou a 23 de novembro de 2020 e conteve $n=613$ leitoas. A experiência consistiu em criar 2 grupos de leitões (apenas fêmeas), os quais foram designados de controlo e antioxidante, respetivamente. Estes dois grupos foram inseridos numa mesma sala, mas separados fisicamente e divididos em diferentes parques como podemos constatar na Figura 9. O número de leitões inseridos em cada parque, assim como a densidade animal, estão descritos na Tabelas 5 e 6, correspondendo à ensaio 1 e 2, respetivamente. A segunda experiência ocorreu numa sala diferente da primeira, daí a designação dos parques ser diferente na Tabela 6.

Tabela 5. Número de animais por parque, área de cada parque, e respetiva densidade animal, na experiência 1.

Parque	Quantidade de animais	Área (m ²)	Densidade animal (animal/m ²)
1.1.	19	3,5	5,5
1.2.	16	3,5	4,6
1.3.	112	24,1	4,7
1.4.	110	24,1	4,6
1.5.	16	3,5	4,6
1.6.	16	3,5	4,6
2.1.	16	3,5	4,6
2.2.	19	3,5	5,5
2.3.	112	24,1	4,7
2.4.	110	24,1	4,6
2.5.	19	3,5	5,5
2.6.	16	3,5	4,6

Tabela 6. Número de animais por parque, área de cada parque, e respetiva densidade animal, na experiência 2.

Parque	Quantidade de animais	Área (m ²)	Densidade animal (animal/m ²)
3.1.	18	3,5	5,2
3.2.	17	3,5	4,9
3.3.	117	24,1	4,9
3.4.	118	24,1	4,9
3.5.	18	3,5	5,2
3.6.	18	3,5	5,2
4.1.	17	3,5	4,9
4.2.	18	3,5	5,2
4.3.	117	24,1	4,9
4.4.	118	24,1	4,9
4.5.	18	3,5	5,2
4.6.	19	3,5	5,5

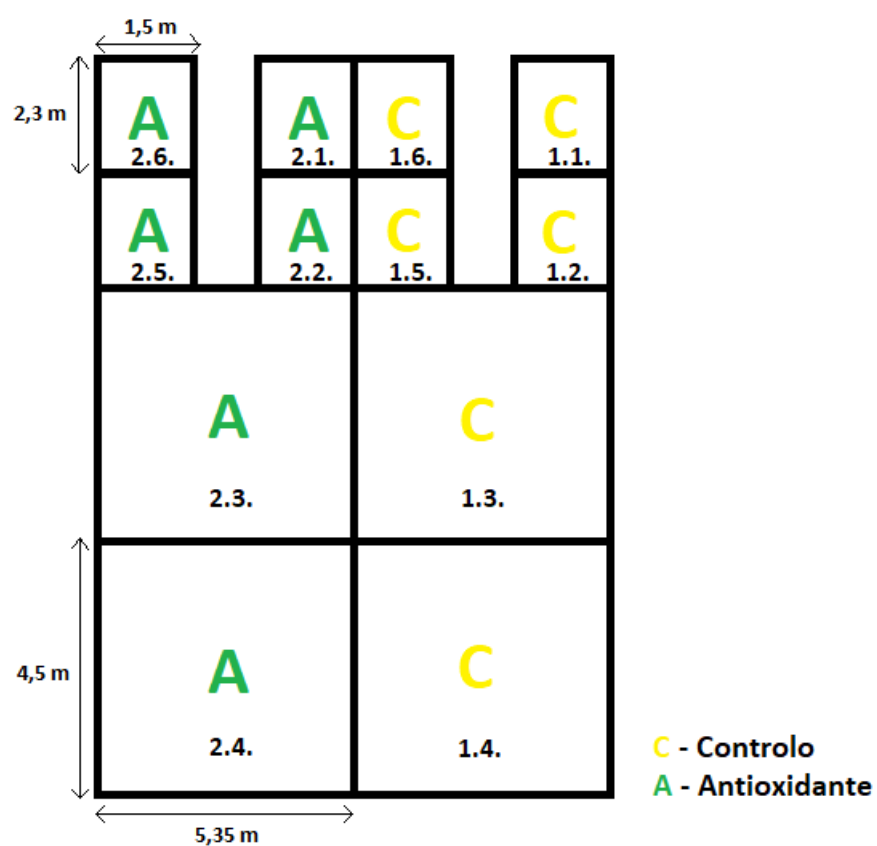


Figura 9. Esquema da recria relativamente aos dois grupos na experiência e a designação de cada parque.

Não foi realizada uma pesagem dos animais, ainda assim, tendo em conta o aprofundar da pesquisa neste trabalho, foram estabelecidas 3 categorias de peso vivo (até 5 Kg; entre 5 a 7,5 Kg; mais de 7,5 Kg) entre os diferentes parques, sendo que os parques de dimensão inferior (3,5 m²) receberam os animais de tamanho mais reduzido (1^a categoria). Os parques grandes centrais (1.3. e 2.3.) continham os animais de maior porte (3^a categoria) e os animais de dimensão intermédia (2^a categoria) ficaram no parque grande do fundo (1.4. e 2.4.). É importante realçar que as leitoas puras (efetivo de renovação) ficaram separadas das F1 e a sua divisão por tamanhos foi feita apenas nos parques designados para as mesmas, que correspondem aos sublinhados a laranja nas Tabelas 5 e 6.

3.4.1. Recolha de dados

Foram então registadas em dias aleatórios as ocorrências de necrose auricular nos leitões, em cada parque. A quantidade de ração experimental consumida também foi contabilizada semanalmente, através do número de sacos de 25 Kg gastos a encher os comedouros do tipo tulha. A temperatura dentro da sala foi constantemente monitorizada nas duas experiências através do software *FarmControl*. As mortes em cada parque não foram consideradas relevantes para o estudo em questão.

À parte do ensaio alimentar realizado, foram também recolhidas 8 amostras (8 leitoas) de tecido das orelhas necrosadas, com zaragatoa, e sangue para pesquisa de patógenos. Foram pesquisados em meio de cultura as bactérias *Streptococcus sp.*, *E. coli*, *S. aureus* e *Haemophylus*. Ademais, foi utilizada a tecnologia MALDI-TOF-MS (ionização/dessorção a laser assistida por matriz acoplada a espectrometria de massa por tempo de voo), para identificar presença de outros microrganismos. Esta técnica consiste na análise de biomoléculas e moléculas orgânicas através de espectrometria de massa, após as mesmas serem ionizadas através da sua dissolução numa matriz normalmente ácida e posteriormente volatilizadas por laser (Morales P., 2020). Por fim, foram realizados testes ELISA para a deteção de anticorpos do vírus PCV e PRRS.

3.4.2. Regime alimentar experimental

Tal como referido anteriormente, a composição dos *pre-starter* e *starter* foram alteradas no ensaio. Apenas foi possível obter a composição e valor nutritivo do *pre-starter*. Essencialmente, foi adicionado um inativador de endo e micotoxinas, ou seja, uma molécula (mananoligossacarídeo, também denominada de MOS) que consegue adsorver alguns tipos de

bactérias Gram-negativas, assim como algumas micotoxinas como a DON e ZEA. A percentagem de antioxidantes foi consideravelmente aumentada, através da adição de polifenóis naturais como a catequina, curcuminoides, procianidinas e extratos de alecrim, para além do aumento de vitamina E para 150 mg. Foram ainda adicionados ácidos gordos de cadeia média (MCFA).

Tabela 7. Composição e valor nutritivo do *pre-starter* experimental. * por ordem decrescente de incorporação

	Valor Nutritivo (%)	Composição em Aditivos por Kg	
Proteína Bruta	19	Vitamina A	15000 U.I.
Gordura Bruta	5,73	Vitamina D3	3000 U.I.
Celulose Bruta	2,6	Vitamina E	150 mg
Metionina	0,5	Óxido de zinco	100 mg
Lisina	1,55	Quelato de zinco	125 mg
Cinza Total	6,3	Ferro	100 mg
Cálcio	0,7	Manganês	45 mg
Fósforo	0,57	Cobre	145 mg
Sódio	0,3	Iodo	1 mg
Composição em Matérias Primas *		Selenito	-
Milho*, Trigo*, Cevada, Bagaço de Soja torrada obtido por extração*, Farinha de bolacha, Soro de leite, Farinha de peixe, Óleo de Soja*, Plasma, Fosfato Dibásico de Cálcio, Carbonato de Cálcio * OGM		Selénio	0,2 mg
		6-Fitasa	500 FTU
		Mananolípossacarídeos	1 g

U.I. (Unidade Internacional); P.P.M (Partes por milhão); FTU (Unidade de fitase)

A alimentação com a ração experimental foi apenas aplicada ao grupo antioxidante, sendo que o grupo controlo continuou o seu plano nutricional normal. Os animais estiveram em *ad libitum* em toda a fase de recria. No primeiro ensaio foram consumidos 6,28 Kg/animal de ração antioxidante e no segundo 7,87 Kg/animal. A diferença significativa pode dever-se ao facto de que no segundo ensaio, os animais saíram mais tarde e também, esse lote foi ligeiramente maior.

3.4.3. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada no software IBM® SPSS®. A lista das variáveis utilizadas foi:

- Variável Dependente: Necrose nas orelhas (Sim/Não)
- Variáveis Independentes:
 - Ração (Normal/Antioxidante)
 - Genética (F1/Pura)
 - Densidade (3 classes)
 - Peso (3 classes)

Para facilitar o estudo, todas as variáveis acima descritas foram transformadas em variáveis categóricas nominais. O modelo estatístico aplicado foi o Teste Exato de Fisher devido à dimensão de alguns fatores da amostra, assim como a diferença do tamanho amostral. Cada variável independente foi cruzada individualmente com a variável dependente para verificar se existe associação entre as mesmas ($0,05 \leq p$). Ademais, foram calculados o risco relativo (*Odds-ratio*) e o respetivo intervalo de confiança.

Relativamente à variável tempo, considerou-se que o importante seria demonstrar em que intervalo temporal ocorreu a maior incidência de necroses e, nesse contexto, foi construído um gráfico de frequências cumulativas com a mediana para cada ensaio.

Capítulo IV - Resultados

4.1. Necrose vs. Tipo de ração

4.1.1. Ensaio 1

O objetivo central do estudo foi o de verificar a influência de uma alimentação diferenciada como fator de proteção para o aparecimento de necroses auriculares em leitões de recria. Posto isto, foi criada uma tabela de contingência (Tabela 8) e aplicado um teste de associação (“Fisher”). Podemos constatar: duas amostras por classe, com volume bastante semelhante ($n_1=289$ e $n_2=292$); 2,2 vezes mais necroses no controlo; 19 indivíduos (3%) contraíram necrose, ou seja, pode-se considerar o evento necrose como raro neste ensaio.

Tabela 8. Tabela cruzada entre a contração de necrose e o tipo de ração, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Adaptado de SPSS)

		Tipo de ração		Total
		Normal	Antioxidante	
Contraíu necrose	Não	276	286	562
	Sim	13	6	19
Total		289	292	581

O teste exato de Fisher demonstrou que não há associação entre a contração de necrose e o tipo de ração ($\chi^2 = 2,741_{(1)}$; $p = 0,108 > 0,05$) no primeiro ensaio, apesar de o valor ser próximo dos 5% de significância. Segundo o *Odds-ratio*, o risco de contrair necrose é 2,245 superior em animais que comem ração normal do que em animais que comem ração antioxidante. Todavia este valor também não é estatisticamente significativo, porque segundo o intervalo de confiança, em 95% dos casos hipoteticamente realizados a amostras, o risco de contrair encontrar-se-á entre o valor 0,841 e 5,990, ou seja, significa que o risco pode ser de 1. Se o risco por 1, significa que as chances de contrair necrose são iguais, independentemente do regime alimentar (Tabela 9).

Tabela 9. Estimativa de risco para a contração de necrose, segundo a relação normal/antioxidante. (Adaptado do SPSS)

Estimativa de risco	Valor	Intervalo de confiança de 95%	
		Inferior	Superior
Razão de Chances para Contraíu necrose (Sim / Não)	2,245	0,841	5,990

4.1.2. Ensaio 2

No segundo ensaio (Tabela 10) as amostras também foram idênticas ($n_1=306$ e $n_2=307$). O número de PNES em controlo foi aproximadamente 1,7 vezes superior, relativamente à ração experimental e ocorreram 59 casos totais de necrose, correspondendo a 9,6% de todo o lote.

Tabela 10. Tabela cruzada entre a contração de necrose e o tipo de ração, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 2. (Adaptado de SPSS)

	<i>Tipo de ração</i>		<i>Total</i>
	Normal	Antioxidante	
Contraíu necrose	Não	269	285
	Sim	37	22
Total	306	307	613

De acordo com o teste estatístico aplicado, o uso da ração antioxidante teve efeito significativo na prevenção de PNES ($\chi^2 = 4,274_{(1)}$; $p = 0,041 < 0,05$). Esta relação está amplamente ligada ao facto de que o número de necroses aumentou consideravelmente e, passou, neste caso, a ser um evento comum. Até porque o risco relativo diminuiu bastante relativamente ao primeiro ensaio (de 2,3 para 1,8) (Tabela 11) e é estatisticamente significativo.

Tabela 11. Estimativa de risco para a contração de necrose, segundo a relação normal/antioxidante, para o ensaio 2. (Adaptado de SPSS)

Estimativa de risco	Valor	Intervalo de confiança de 95%	
		Inferior	Superior
Razão de Chances para Contraíu necrose (Sim / Não)	1,783	1,024	3,095

4.2. Necrose vs. Genética

4.2.1. Ensaio 1

No contexto deste estudo, considerou-se necessário comparar não só o tipo de alimentação com o desenvolvimento de necroses, mas também outros fatores apontados como de risco, segundo referências bibliográficas, um deles sendo a genética dos animais. Assim sendo, foi construída novamente uma tabela cruzada entre estas duas variáveis com o intuito de observar as amostras do primeiro ensaio (Tabela 12). Denota-se uma desigualdade entre o tamanho das amostras ($n_1 = 508$ e $n_2 = 73$); as leitoas puras não contraíram qualquer necrose; 4% das F1 apresentou necrose.

Tabela 12. Tabela cruzada entre a contração de necrose e a genética dos animais, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Adaptado de SPSS)

		Genética		Total
		F1	Puras	
Contraiu necrose	Não	489	73	562
	Sim	19	0	19
Total		508	73	581

Não foi significativa a relação entre estes dois fatores ($\chi^2 = 2,823_{(1)}$; $p = 0,152 > 0,05$). Apesar de não ser possível calcular o *Odds-ratio* devido às zero observações de necrose nas leitoas puras, é facilmente perceptível que o risco de contrair é maior nas F1.

4.2.2. Ensaio 2

Podemos observar que no segundo ensaio (Tabela 13), o distanciamento entre o tamanho das amostras é ainda superior ao do ensaio 1 ($n_1=560$ e $n_2=53$), o que provavelmente irá impossibilitar a significância entre estas variáveis. Ainda assim, apenas 5,7% das leitoas puras contraíram PNES, ao passo que nas leitoas F1 esse mesmo valor foi de 10%. Todavia, ocorreu um aumento relativamente ao primeiro ensaio, visto que nenhuma leitoa pura tinha desenvolvido PNES e pode estar relacionado com o fator ambiental, que abordaremos mais à frente no ponto 4.6.

Tabela 13. Tabela cruzada entre a contração de necrose e a genética dos animais, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 2. (Adaptado do SPSS)

		Genética das leitoas		Total
		F1	Puras	
Contraiu necrose	Não	504	50	554
	Sim	56	3	59
Total		560	53	613

Tal como previsto, o teste exato de Fisher demonstrou a fraca relação entre estas variáveis ($\chi^2 = 1,048_{(1)}$; $p = 0,463 > 0,05$), mais baixa ainda do que no ensaio anterior. Todavia, foi possível obter o *Odds-ratio* que indica um risco relativo 1,85 vezes superior dos animais híbridos contraírem PNES (não significativo) (Tabela 14).

Tabela 14. Estimativa de risco para a contração de necrose, segundo a relação normal/antioxidante, para o ensaio 2. (Adaptado do SPSS)

Estimativa de risco	Valor	Intervalo de confiança de 95%	
		Inferior	Superior
Razão de Chances para Contraiu necrose (Sim / Não)	1,851	0,559	6,134

4.3. Necrose vs. Densidade animal

4.3.1. Ensaio 1

Outro dos fatores que foi possível comparar com as necroses foi a densidade animal (Tabela 15). Observa-se que à partida não há qualquer relação entre ambos no ensaio 1, visto que a menor densidade animal (4,6 animais/m²) apresenta o maior número de observações positivas. Apesar da desigualdade nas amostras, era expectável observarem-se necroses nos parques com 5,5 animais/m².

Tabela 15. Tabela cruzada entre a contração de necrose e a densidade animal, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Adaptado de SPSS)

		Densidade animal nos parques			Total
		4.6	4.7	5.5	
Contraiu necrose	Não	289	216	57	562
	Sim	11	8	0	19
Total		300	224	57	581

O teste de exato de Fisher só veio confirmar o óbvio ($\chi^2 = 1,792_{(2)}$; $p = 0,450 > 0,05$) e de todos os fatores o que demonstrou menos associação com as necroses. Não é possível calcular o risco relativo no SPSS em tabelas de contingência que não sejam de 2 por 2.

4.3.2. Ensaio 2

Novamente, um evidente desfasamento entre as amostras é visível ($n_1=504$, $n_2=90$ e $n_3=19$) na tabela 16. Todas as classes de animais incluíram necroses, no entanto em termos de percentuais foram muito similares 8,9%, 13,3% e 10,5%, respetivamente às densidades 4,9, 5,2 e 5,5. O maior número de PNES em termos proporcionais foi a densidade 5,2, com uma diferença de 4,4% para a densidade animal mais baixa (4,9 animais/m²).

Tabela 16. Tabela cruzada entre a contração de necrose e a densidade animal, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 2. (Adaptado de SPSS)

		<i>Densidade animal nos parques</i>			<i>Total</i>
		4.9 ₁	5.2 ₂	5.5 ₃	
<i>Contraíu necrose</i>	Não	459	78	17	554
	Sim	45	12	2	59
<i>Total</i>		504	90	19	613

Como era expectável pelos resultados obtidos, a variável densidade animal não demonstrou ter qualquer relação com o desenvolvimento de PNES em ambos os ensaios ($\chi^2 = 1,722_{(2)}$; $p = 0,360 > 0,05$).

4.4. Necroses vs. Peso

4.4.1. Ensaio 1

O peso dos animais à altura do desmame, pode ter um papel relevante no aparecimento de PNES. Observa-se na Tabela 17, que 8% dos animais com menos de 5 Kg contraíu PNES; 3% da classe 5 a 7,5 Kg desenvolveu PNES; 4% das leitoas com mais de 7,5 Kg formou PNES; amostra é desigual no caso dos animais mais pequenos (< 5), correspondendo a 13% do volume total de indivíduos.

Tabela 17. Tabela cruzada entre a contração de necrose e as classes de peso, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Adaptado de SPSS)

		<i>Classes de Peso (Kg)</i>			<i>Total</i>
		< 5	$5 \leq x < 7,5$	$> 7,5$	
<i>Contraíu necrose</i>	Não	59	214	216	489
	Sim	5	6	8	19
<i>Total</i>		64	220	224	508

Segundo o teste estatístico, não houve relação significativa suficiente entre as variáveis ($\chi^2 = 3,390_{(2)}$; $p = 0,154 > 0,05$). Novamente, não foi possível calcular o risco relativo no SPSS por ser uma tabela 2x3. No entanto, achou-se importante verificar o risco da classe “menos de 5 Kg” relativamente às restantes e, nesse contexto, procedeu-se ao agrupamento das classes 2 e 3 do peso (Tabela 18), visto que o seu tamanho amostral e as observações positivas foram similares. Curiosamente, valor-p do teste de Fisher diminuiu para 0,077, o que demonstra proximidade na relação entre as duas variáveis, ou seja, o desenvolvimento de PNES pode

depender do peso inicial dos animais. A diferença de tamanho amostral entre as duas classes de peso, pode influenciar negativamente o modelo estatístico. Num cenário hipotético (Tabela 18), em que o tamanho da amostra de leitoas com “menos de 5 Kg” fosse 7 vezes superior, isto é, idêntico ao de “mais do que 5 Kg”, o valor-p descia para 0,003 ($p \leq 0,05$), ou seja, seriam variáveis fortemente relacionadas. Relativamente ao *Odds-ratio* (Tabela 19), o risco de contrair necrose foi 2,6 vezes superior na classe 1 relativamente à classe 2, embora estatisticamente pouco significativo.

Tabela 18. Tabelas cruzadas, real e hipotética, respetivamente, entre a contração de necrose e as classes de peso, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 1. (Original)

Classes de Peso (Kg)						Classes de Peso (Kg)				
Contraíu necrose	< 5		≥ 5		Ou hipoteticamente	Contraíu necrose	< 5		≥ 5	
	Não	x7 59	430	489			Não	413	430	
	Sim	x7 5	14	19			Sim	35	14	
Total	64		444			Total	448		444	

Tabela 19. Estimativa de risco para a contração de necrose, segundo a relação < 5Kg / ≥ 5 Kg. (Adaptada do SPSS)

Estimativa de risco	Valor	Intervalo de confiança de 95%	
		Inferior	Superior
Razão de Chances para Contraíu necrose (Sim / Não)	2,604	0,904	7,462

4.4.2. Ensaio 2

No segundo ensaio as amostras foram ligeiramente mais equilibradas, não obstante, os animais mais pequenos representaram sensivelmente 21% do total do ensaio. Verificou-se segundo a tabela 20, que 12,1% dos animais com menos de 5 Kg contraiu PNES; 11,3% da classe 5 a 7,5 Kg desenvolveu PNES; 7,3% das leitoas com mais de 7,5 Kg formou PNES. Ocorreu um aumento generalizado de casos em todas as classes, relativamente ao primeiro ensaio, no entanto, os animais mais pequenos continuaram a ser os mais visados.

Tabela 20. Tabela cruzada entre a contração de necrose e as classes de peso, incluindo o número de observações para cada classe, para o ensaio 2. (Adaptado de SPSS)

		Classes de peso dos animais			Total
		< 5kg	5 kg ≤ x < 7,5 kg	> 7,5 kg	
Contraíu necrose	Não	109	211	216	536
	Sim	15	27	17	59
Total		124	238	233	595

Não houve relação significativa entre a variável peso e necroses de acordo com o teste estatístico implementado ($\chi^2 = 3,136$ (2) ; $p = 0,211 > 0,05$). Não ocorreu a necessidade de unir classes neste caso, porque para além de não se verificar uma tão grande proximidade entre a significância como no ensaio anterior, a diferença percentual entre animais com PNES da classe 1 e 2 não foi tão evidente.

4.5. Necroses no tempo

No ensaio 1 foi possível constatar que as necroses começaram a surgir a partir do dia 14 de observações e o maior período de incidência correspondeu ao intervalo dos 22 aos 27 dias, após a entrada dos animais na recria (Gráfico 1).

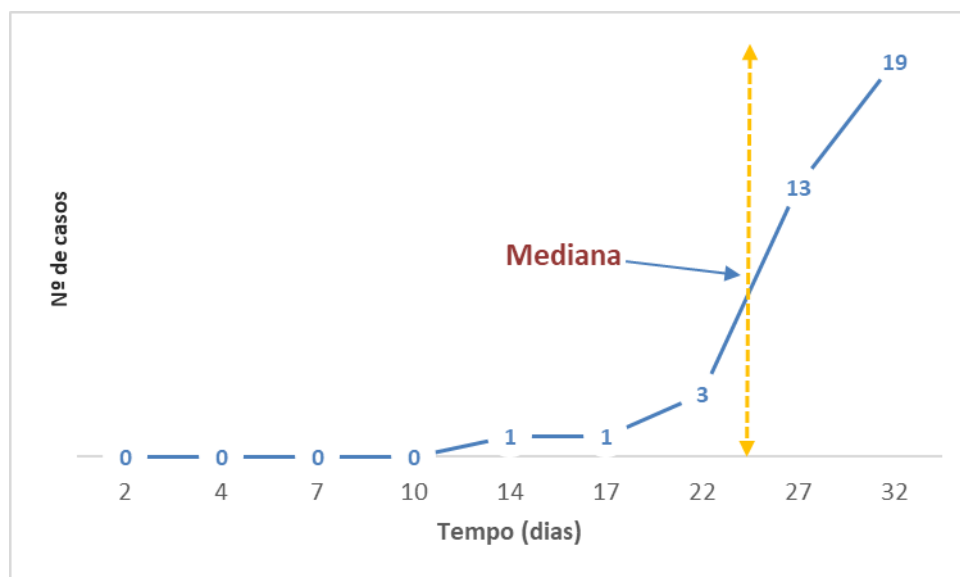
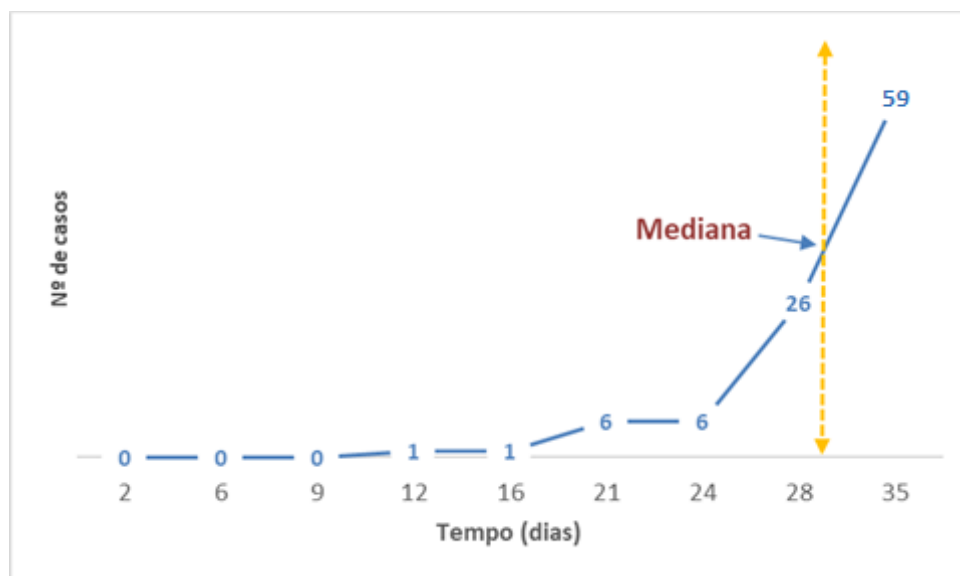


Gráfico 1. Frequências cumulativas de necroses durante o primeiro ensaio e respetiva mediana. (Original)

No ensaio 2 as necroses começaram a aparecer ligeiramente mais cedo do que no primeiro ensaio. Ademais, a mediana (30 indivíduos) ocorreu no intervalo entre os 28 e os 35 dias, num período mais tardio relativamente ao ensaio anterior. A tendência de aumento de PNES também foi superior no final do ensaio (Gráfico 2).



4.6. Necroses vs. Temperatura

A experiência 1 ocorreu no fim do outono, altura em que as temperaturas começam a diminuir, principalmente durante a noite. No Gráfico 3 podemos verificar essa tendência e para além disso, consegue-se perceber um diferencial de cerca de 5°C nas temperaturas médias diárias entre o início e o fim do ensaio. Não é estatisticamente fácil de relacionar a variação das temperaturas com a incidência de PNES, porém é observável que a maior parte destas ocorreu quando as temperaturas estavam mais baixas (média de 25°C, aproximadamente).

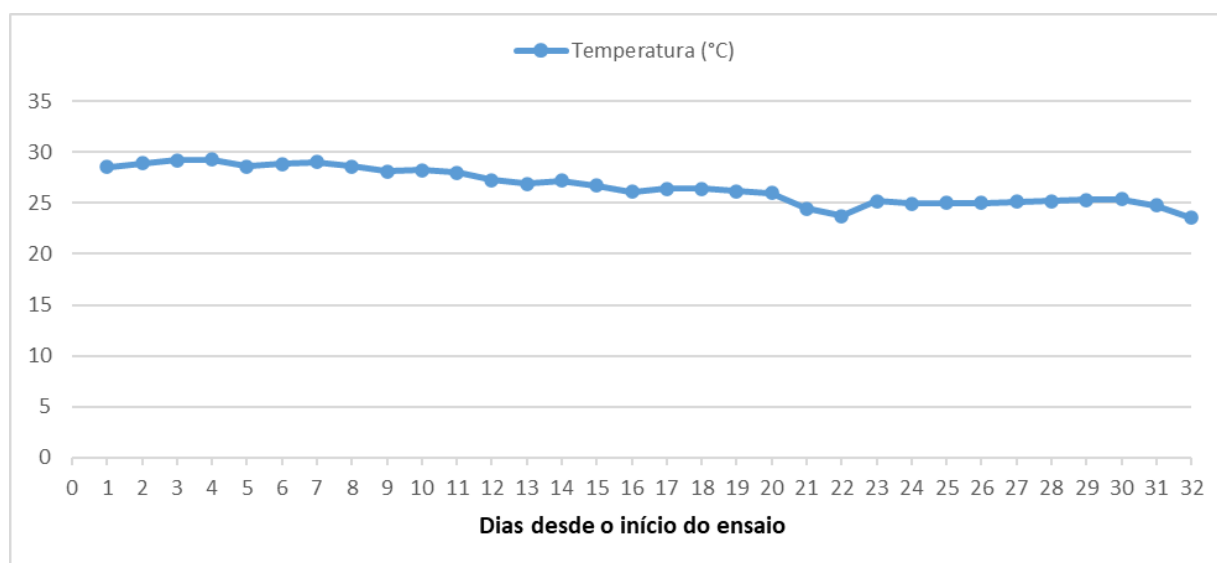


Gráfico 3. Evolução da temperatura média diária na sala do ensaio 1. (Original)

O segundo ensaio já coincidiu com a transição do outono para o inverno e denota-se uma variação acentuada de temperaturas médias ao longo do mesmo (Gráfico 4), sendo que a máxima média foi de sensivelmente 28°C no 7º dia e a mínima média de 23°C no 24º dia. Apesar das variações, a tendência foi sempre decrescente. Curiosamente, este ensaio conteve muito mais animais doentes com PNES do que o anterior (9,6% para 3%) e o fator que mais se alterou foi a temperatura.

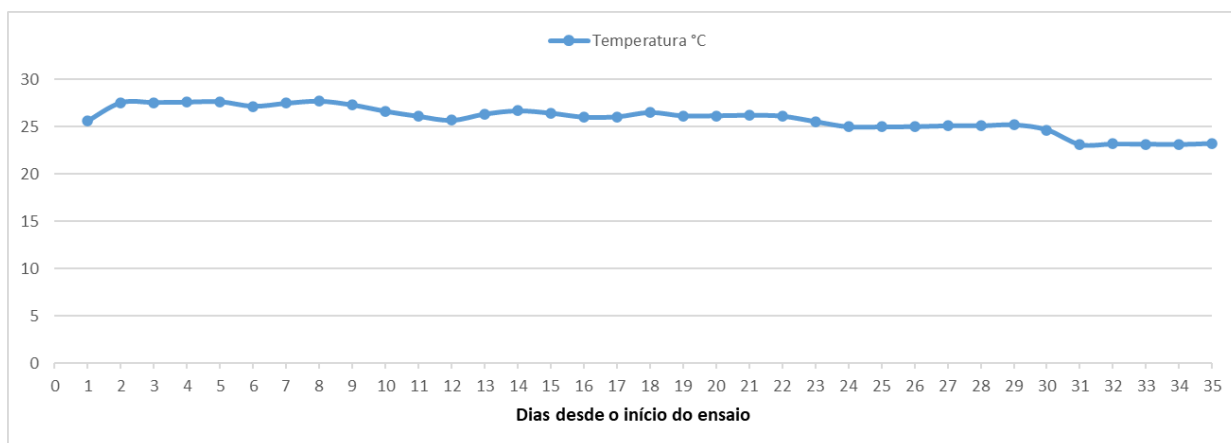


Gráfico 4. Evolução da temperatura média diária na sala do ensaio 2. (Original)

4.7. Análises Laboratoriais

Das 8 amostras colhidas dos animais, tanto de sangue como de tecido, o resultado mais significativo ocorreu em 6 amostras positivas para género *Streptococcus*, quatro foram da espécie *pseudoporcinus* e duas de *canis* (Tabela 21). Também foi identificada a bactéria *Mannheimia sp.* num dos meios de cultura em gelose e *Moraxella sp.* pela técnica MALDI-TOF, nenhuma delas de grande relevância no que concerne a patologias em suínos.

Tabela 21. Pesquisa de patógenos e testes ELISA para as todas as amostras. (Original)

<i>Análises realizadas</i>	<i>Resultados</i>
PRRS - soro	Negativo
PCV - soro	Negativo
Pesquisa de <i>Streptococcus sp.</i>	Positivo (6 amostras)
Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	Negativo
Pesquisa <i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo
Pesquisa <i>Haemophylus</i>	Negativo
MALDI-TOF	1 bactéria identificada

Capítulo V - Discussão

A ração diferenciada, contendo maior percentagem de compostos antioxidantes (polifenóis), MCFA e MOS, demonstrou poder ter alguma influência no *outcome* da PNES. No primeiro ensaio, apesar de não ser estatisticamente significativa, esteve muito perto de o ser e o risco foi elevado. Já no segundo ensaio, demonstrou existir uma relação. Esta redução da incidência de PNES pode estar relacionada com diversos fatores. Segundo Verhelst et al. (2014), o uso de polifenóis derivados de extratos de plantas em ração, podem reduzir as diarreias pós-desmame através da inativação da *heat-labile toxin* (LT), enterotoxina libertada pela *E. coli* que impele os enterócitos a libertarem iões cloro (Cl⁻) provocando um desequilíbrio iónico que leva à desidratação e, consequentemente, a fezes líquidas. Também, Gessner et al. (2013) verificou que o uso de extratos de uvas contendo polifenóis trava a inflamação do duodeno, algo que acontece frequentemente após o desmame e, ademais, tem ação positiva na saúde e *performance* dos animais. Deng et al. (2010) constatou que polifenóis de extrato de chá conseguiram diminuir o stress oxidativo induzido em leitões pós-desmame e inverter o *status* imunitário que até então era pró-inflamatório, através do aumento considerável da concentração no soro sanguíneo de citoquinas IL-4, responsáveis por uma resposta anti-inflamatória. Este tipo de resposta poderá ter influência no processo que decorre no ápice da orelha dos animais, onde o tecido granuloso e inflamado da derme normalmente se converte em vasculite, trombose e por fim necrose.

O uso de MCFA em ração *pre-starter*, demonstrou ter influência na taxa de crescimento de leitões recém desmamados, numa experiência realizada por Hewitt et al. (2015), através de melhorias na microbiota do lúmen intestinal. Estes ácidos gordos têm um efeito prebiótico e não favorecem a multiplicação de algumas bactérias Gram-positivas como os *Cocos* e também *E. coli* (Gram-negativa). Para além disso, ajudam a melhorar o desenvolvimento do aparelho intestinal após o desmame e favorecem o aumento das vilosidades (Jerešiuinas et al., 2013). Neste ponto, a adição destes ácidos gordos pode ter influenciado a incidência de PNES, porque animais mais saudáveis, são animais menos propensos a desenvolver patologias. Ademais, a bactéria *Streptococcus* detetada em 6 análises aos tecidos necrosados é uma das visadas pelos MCFA.

Os MOS são carboidratos complexos, originários da parede celular da levedura da cerveja (*Sacharomyces cerevisiae*), com recetores capazes de se ligar a bactérias patogénicas através de proteínas do pilus tipo 1, como é o caso de algumas estirpes de salmonela e *E. coli*. Esta molécula é vista como um prebiótico, com potencial para substituir os reguladores de crescimento tradicionalmente usados na produção intensiva de suínos como, por exemplo, o

óxido de zinco (Borowsky et al., 2009). Segundo Nocht et al. (2009), 1 grama de MOS/(Kg de ração) em leitões recém desmamados melhorou a resposta imunitária específica e humoral após 2 semanas de ingestão, mostrando também alguma vantagem em respostas imunitárias localizadas, como pode ser o caso das orelhas.

Não se revelou significativa a relação entre a genética e a PNES, apesar do elevado risco das F1 em contrair, comparativamente com as leitoas puras Large White da Danbreed. Camerlink et al. (2015) verificou que ao selecionar indivíduos com maior efeito genético indireto (IGEs) sobre o crescimento de outros colegas de cela ou até mesmo animais com proximidade filogenética, conseguiu reduzir a frequência de comportamentos agressivos, comparativamente a leitões cujo IGEs era mais baixo. Concretamente, animais com IGEs superior, tiveram 40% menos comportamentos agressivos e 27% menor ação de morder as orelhas de outros. Estes índices genéticos foram provenientes de dados históricos daquelas linhagens e todos os outros padrões genéticos, como a taxa de crescimento, entre outras, foram mantidas praticamente constantes para não deturpar a experiência. Não se pode afirmar que o fator genético teve ou não influência neste caso específico, muito devido à diferença amostral entre F1 e puras. Porém, é algo que deve ser investigado na tentativa de melhorar o bem-estar animal na fase de recria. A densidade foi a variável com menos expressão sobre o efeito em PNES, contradizendo a maioria das referências bibliográficas apresentadas e o próprio raciocínio lógico (Busch et al., 2008; Park et al., 2013b). É possível que diferentes variáveis como a genética, a ração e o peso tenham destorcido o efeito da densidade sobre a competição e brigas das leitoas. Por exemplo, na experiência 1, dos 3 parques com a densidade mais alta (5,5 animais/m²), dois deles eram de leitoas puras. Por outro lado, não há assim tantas experiências feitas neste sentido. Park et al. (2013b) obteve uma significância acima dos 5% (9%), assim como Busch et al. (2008) de 7%. Já Busch et al. (2015), obteve 2%.

Relativamente ao peso ao desmame, novamente, não foi possível estabelecer uma relação concreta, devido à diferença entre o tamanho das amostras dos diferentes pesos. Todavia, é perceptível uma tendência para que os animais mais pequenos sejam mais suscetíveis a contrair PNES. No entanto, Busch et al. (2015) não encontrou evidências de que leitões mais pequenos ou fracos, estejam mais predispostos à PNES. Adicionalmente, Faccin et al. (2020) não verificou a existência de uma relação entre o peso ao desmame e a mortalidade. Larriestra et al. (2006) afirma que um peso inferior a 3,6 Kg pode ser um preditor de morte em fase de recria. Tal como foi mencionado anteriormente, a idade ao desmame está relacionada com a necrose das orelhas em suínos (Park et al., 2013b). Isto acontece, possivelmente, não pelo peso com que estes saem da maternidade, mas pelo *status* imunitário que acarretam.

Em ambas as experiências o número de casos aumentou exponencialmente a partir dos 23 e/ou 24 dias de recria, correspondendo a 7 semanas de vida, o que confere com o que a bibliografia indica como idade média de surgimento da PNES (Malik et al., 2021; Park et al., 2013b). Apesar de não haver informação concisa relativamente ao porquê de a maioria dos casos de PNES ocorrer nesta idade, é possível que o sistema imunitário mais ativo nesta altura predisponha à deposição de imuno-complexos nos capilares da extremidade das orelhas. Karlsson et al. (2017) constatou que a colonização de espiroquetas do gênero *Treponema sp.* na gengiva dos leitões ocorre aproximadamente na mesma altura em que surgem os primeiros sintomas de PNES. Porém, é pouco provável que esta seja a razão principal, dado que não foram detetadas bactérias deste gênero nas análises ao tecido auricular.

Foi curioso denotar que existiu maior incidência de PNES no segundo ensaio, quando as temperaturas médias diárias foram consideravelmente mais baixas. No entanto, segundo (Malik et al., 2021) as temperaturas altas são mais favoráveis ao surgimento de PNES. Assim sendo, não foi possível tirar uma conclusão relativamente à influência das temperaturas, isto porque a densidade dos animais foi maior no segundo ensaio, o que pode ter influenciado o nível de agressividade dos animais. Ademais, o facto da exploração de Mealha estar localizada a uma altitude de aproximadamente 400 m, leva a que as temperaturas sentidas durante a noite no exterior fosse muito próximas de 0 °C. Estas circunstâncias, levaram a que a decisão técnica fosse de deixar uma abertura mínima nas janelas (1% a 5%) para conservar o calor dentro das salas, acrescido de um termoventilador de 12 kW ligado no nível máximo, resultando numa humidade relativa alta, que é tido como um dos principais fatores de risco à PNES (Malik et al., 2021; Park et al., 2013b) e amplamente estudado.

Por último, foram isolados de quatro cocos da espécie *Streptococcus pseudoporcinus* e dois de *Streptococcus canis*, de amostras de tecidos de orelhas necrosadas, ambas do tipo β -hemolítica, com fatores de virulência (Little, 2016; Sawamura et al., 2018). Contêm uma cápsula constituída por polissacarídeos que a protege do sistema imunitário do hospedeiro (Segura et al., 2017), assim como as proteínas M da parede celular que evitam a fagocitose e auxiliam na adesão as células da epiderme e mucosa (Stevens & Bryant, 2016). Também libertam proteínas como as estreptolisinas, DNAses, hialuronidasas que contribuem para a destruição dos tecidos e algumas estirpes libertam exotoxinas que induzem uma resposta pró-inflamatória (Berhanu et al., 2020). A espécie *S. suis* é comensal e pode ser encontrada no trato respiratório superior, como na mucosa do nariz dos suínos, para além de conseguir colonizar a pele não danificada (Stevens & Bryant, 2016). Lang et al. (2010) obteve 61 casos positivos de estreptococos de 91 amostras recolhidas. Este mesmo autor constatou que a PNES não ocorreu apenas devido a

traumas e verificou hiperplasia, vasculite e proliferação bacteriana em camadas mais profundas da derme. Não foram detetados vestígios de estafilococos, excluído então essa hipótese neste caso de estudo.

Capítulo VI - Conclusão

Tal como foi proposto, este estudo pretendeu oferecer um contributo científico relativamente ao bem-estar animal, mais concretamente ao puzzle que é a síndrome da orelha necrosada em suínos. Esta doença afeta muitas explorações, porém, como não causa grandes prejuízos económicos é, muitas vezes, ignorada ou tratada simultaneamente com outras patologias existentes.

Sendo o conhecimento atual escasso, o papel dos produtores deve ser de prevenção e redução dos fatores de risco associados. Estes podem ser encontrados de forma sumária neste documento. Outra forma de o fazer, é aumentando o *status* imunitário dos animais, recorrendo a suplementos prebióticos. Ficou evidente nesta experiência realizada em Arouca que o uso de polifenóis, MOS e MCFA juntamente com a ração, teve um efeito benéfico na saúde dos leitões e evitou o aparecimento de outras patologias para além da PNES.

O *Streptococcus sp.* foi, neste caso, o maior suspeito, no que toca ao rol de possíveis agentes patológicos. Os suínos são portadores do mesmo, para além de que conseguem sobreviver na pele destes animais. Algumas estirpes virulentas têm as ferramentas necessárias para penetrar e danificar diferentes tipos de tecidos. São necessários mais estudos, principalmente inoculação *in vivo*, para apurar o verdadeiro papel deste microrganismo no processo inflamatório desencadeado.

Os outros fatores de risco estudados, não devem ser descartados, apesar de não ter ocorrido uma relação estatística concreta, isto porque estas experiências foram feitas em contexto de produção e as diferentes variáveis podem ter distorcido os resultados entre si. A densidade é um bom exemplo disso, pois sabe-se que é um bom indicador para níveis de competição e de agressividade e, neste caso, não foi possível demonstrar a sua correlação com a PNES.

Bibliografia

- Berhanu, Gemechu, Gemechu, Kerorsa, & Kerorsa, Berhanu (2020). Virulence Factors and Virulence Factors and Pathogenesis of Some Streptococcus Species: Review. In *International Journal of Health* (Vol. 6). Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/338534681>
- Blocks, G.H.M., Vernooy, J.C.M., & Verheijden, J.H.M. (1994). Integrated quality control project: Relationships between pathological findings detected at the slaughterhouse and information gathered in a veterinary health scheme at pig farms. *Veterinary Quarterly*, 16(2), 123–127. <https://doi.org/10.1080/01652176.1994.9694432>
- Borba, Orlanda (2011). *AGRÁRIAS MICOTOXINAS NA ALIMENTAÇÃO E NA SAÚDE ANIMAL E HUMANA*. Universidade dos Açores. Angra do Hóroismo.
- Borowsky, Luciane, Corção, Gertrudes, & Cardoso, Marisa (2009). Mannan oligosaccharide agglutination by Salmonella enterica strains isolated from carrier pigs. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(3), 458–464. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000300007>
- Bringas J., Vidal A., Jovellar J., Núñez P., Sánchez P., & Huerta I. (2014, June). *Relationship between pig performance and maximum 'M.hypopneumoniae'-like lung lesions at slaughterhouse* (IVIS, Ed.). Cancun: IVIS.
- Busch, Marie, Dedeurwaerdere, Audrey, & Wachmann, Henrik (2015, December). *THE DEVELOPMENT AND THE CONSEQUENCES OF EAR NECROSIS IN ONE HERD*. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/266489535_THE_DEVELOPMENT_AND_THE_CONSEQUENCES_OF_EAR_NECROSIS_IN_ONE_HERD
- Busch, Marie E, Wachmann, Henrik, Nielsen, Elisabeth O, & Baekbo, Poul (2008). RISK FACTORS FOR EAR NECROSIS AND TAIL LESIONS IN WEANERS. *Pig Veterinary Society Congress*. Retrieved from www.ivis.org
- Camerlink, Irene, Ursinus, Winanda W., Bijma, Piter, Kemp, Bas, & Bolhuis, J. Elizabeth (2015). Indirect Genetic Effects for Growth Rate in Domestic Pigs Alter Aggressive and Manipulative Biting Behaviour. *Behavior Genetics*, 45(1), 117–126. <https://doi.org/10.1007/s10519-014-9671-9>
- Capoulas J. (2015). *Efeitos de Deuas Idades de Desmame (21 e 28 Dias) na Produtividade dos Leitões e das Porcas*. Lisboa.
- Charbonneau G. (2013, July). Caso clínico: Epidermite exsudativa por Staphylococcus hyicus e Staphylococcus chromogenes.
- Christiane Lang, Thomas Voglmayr, Franz Waxenecker, Ursula Hofstetter, Herbert Weissenböck, Mario Ogris, ... Mathias Ritzmann (2010). Etiology of the ear necrosis syndrome – investigation of infectious agents. In International veterinary information service (Ed.), *Practitioner Line - Skin diseases* (pp. 43–43). Vancouver: IVIS.
- Deen, J. (2010). Pigs: Behavior and Welfare Assessment. In *Encyclopedia of Animal Behavior* (pp. 731–739). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-045337-8.00086-3>
- Deng, Qilan, Xu, Jing, Yu, Bing, He, Jun, Zhang, Keying, Ding, Xuemei, & Chen, Daiwen (2010). Effect of dietary tea polyphenols on growth performance and cell-mediated immune response of post-weaning piglets under oxidative stress. *Archives of Animal Nutrition*, 64(1), 12–21. <https://doi.org/10.1080/17450390903169138>

- DGAV (2018). *Manual de Bem-Estar Animal* (Vol. 1). Retrieved from https://www.dgadr.gov.pt/images/docs/formacao/manuais_bem_estar_animal/Manual_BE_A.pdf
- Domingues A. (2017). *Efeito do peso e do sexo ao desmame sobre a performance dos leitões*. Universidade de Évora, Évora.
- Dunklin EW, Puck TT. The lethal effect of relative humidity on air-borne bacteria. *J Exp Med*. 1948 Feb 1;87(2):87-101.
- Faccin, Jamil, Cemin, Henrique Scher, Paula, Ana, & Mellagi, Gonçalves (2020). Evaluating the impact of weaning weight and growth rate during the first week post weaning on overall nursery performance. In *Article in Journal of Swine Health and Production*. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/339800213>
- Fairbrother J. (2015, March 4). E. coli associada a diarreia pós-desmame. Etiologia, sinais clínicos e factores de risco.
- Franco A. (2020). *ACOMPANHAMENTO DAS TAREFAS DO MÉDICO VETERINÁRIO OFICIAL – MONITORIZAÇÃO DO CORTE DE CAUDA E DAS LESÕES POR MORDEDURA DE CAUDA EM SUÍNOS NO MATADOURO*. Universidade do Porto, Porto.
- Gessner, Denise K, Fiesel, Anja, Most, Erika, Dinges, Jennifer, Wen, Gaiping, Ringseis, Robert, & Eder, Klaus (2013). *Supplementation of a grape seed and grape marc meal extract decreases activities of the oxidative stress-responsive transcription factors NF- κ B and Nrf2 in the duodenal mucosa of pigs*. Retrieved from <http://www.actavetscand.com/content/55/1/18>
- Giuffra, E, Kijas, J M H, Amarger, V, Carlborg, O., Jeon, J.-T, & Andersson, L (2000). *The Origin of the Domestic Pig: Independent Domestication and Subsequent Introgression*.
- Guimarães S., Moura D., & Silva P. (2014). Fármacos. In *Terapêutica Medicamentosa e Suas Bases Farmacológicas: Vol. 6ª edição* (Porto Editora, pp. 593, 625, 627, 689). Porto Editora.
- Harcourt, R. (1973). Porcine ulcerative spirochaetosis. *Veterinary Record*, 92(24), 647–648. <https://doi.org/10.1136/vr.92.24.647>
- Hewitt, R. J. E., Isaac, D., vande Ginste, J., & van Barneveld, R. J. (2015). Improving weaner pig performance through the inclusion of activated medium chain fatty acids. *Animal Production Science*, 55(12), 1545. <https://doi.org/10.1071/anv55n12ab102>
- Holt, Hannah R, Alarcon, Pablo, Velasova, Martina, Pfeiffer, Dirk U, & Wieland, Barbara (2011). *BPEX Pig Health Scheme: a useful monitoring system for respiratory disease control in pig farms?* Retrieved from <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/7/82>
- Irene Camerlink (2022, March 7). Who benefits from pig toys?
- Jerešiusnas A., Jeresiuniene O., & Tamasauskiene D. (2013). The impact of MCFA on zootechnical parameters of suckling and weaned piglets. *BOKU - Symposium Tierernährung*.
- Karlsson, Frida, Rosander, Anna, Fellström, Claes, & Backhans, Annette (2017). Experimental inoculation of *Treponema pedis* T A4 failed to induce ear necrosis in pigs. *Porcine Health Management*, 3. <https://doi.org/10.1186/s40813-017-0073-2>

- Kelly, D., Smyth, J. A., & McCracken, K. J. (1991). Digestive development of the early-weaned pig. *British Journal of Nutrition*, 65(2), 169–180.
<https://doi.org/10.1079/bjn19910078>
- Leite P., Mendes F., Pereira M., & Lacerda M. (2012). *Limitações da Utilização da Soja Integral e Farelo de Soja na Nutrição de Frango de Corte*. Goiânia.
- Li, D F, Nelssen, J L, Reddy, P G, Blecha, F, Klemm, R D, Giesting, D W, ... Goodband, R D (1991). Measuring suitability of soybean products for early-weaned pigs with immunological criteria. *Journal of Animal Science*, 69(8), 3299.
<https://doi.org/10.2527/1991.6983299x>
- Li, Y Z, Zhang, H F, Johnston, L J, Martin, W, Peterson, J D, & Coetzee, J F (2017). Effects of tail docking and tail biting on performance and welfare of growing-finishing pigs in a confinement housing system. *Journal of Animal Science*, 95(11), 4835–4845.
<https://doi.org/10.2527/jas2017.1571>
- Little, Susan E. (2016). Emerging Aspects of Streptococcal Infections in Cats. In *August's Consultations in Feline Internal Medicine, Volume 7* (pp. 64–72).
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-22652-3.00005-0>
- Louro A. (2009). Endotoxinas bacterianas vs Resposta inflamatória e alérgica. Dissertação de Mestrado em Análises Aerobiológicas. Departamento de Biologia da Universidade de Évora.
- Maddox E.T., Graham C.W., & Reynolds W.A. (1973). Ampicillin treatment of three cases of streptococcal auricular dermatitis in swine. *Vet. Med.Small Anim. Clinic*, 68, 1018–1019.
- Malik, Mateusz, Chiers, Koen, Boyen, Filip, Croubels, Siska, & Maes, Dominiek (2021a). Porcine ear necrosis. *Veterinary Journal*, Vol. 271.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105655>
- Malik, Mateusz, Schoos, Alexandra, Chantziaras, Ilias, Donkers, Dries, Croubels, Siska, Doupovec, Barbara, & Maes, Dominiek (2021b). Porcine ear necrosis in weaned piglets: prevalence and impact on daily weight gain. *Porcine Health Management*, 7(1), 61.
<https://doi.org/10.1186/s40813-021-00240-z>
- Martins G. (2013, November 11). Epidermite Exsudativa em Suínos.
- Morales P. (2020). MALDI-TOF-MS: método proteômico para a identificação rápida e eficaz. PubMed: <https://pubmed.com.br/maldi-tof-ms-um-metodo-proteomico-para-a-identificacao-rapida-e-eficaz-de-microrganismos-e-moleculas-de-interesse-clinico/>
- Nochta, I., Tuboly, T., Halas, V., & Babinszky, L. (2009). Effect of different levels of mannan-oligosaccharide supplementation on some immunological variables in weaned piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 93(4), 496–504.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2008.00835.x>
- Nuscience (2015, September). *Ear necrosis: solutions for a complex problem*. pp. 1–3.
- Nutrex (2021). Ear necrosis in pigs – A multifactorial problem. Retrieved January 27, 2022, from <https://www.nutrex.eu/insights/ear-necrosis-in-pigs/>
- OECD-FAO (2021). *Agricultural Outlook 2021-2030*. <https://doi.org/10.1787/19428846-en>
- Papatsiros, Vassilis (2012). Ear necrosis syndrome in weaning pigs associated with PCV2 infection: A case report. In *REPORT Veterinary Research Forum* (Vol. 3). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4299987/>

- Park, Jeonghwa (2011). *INVESTIGATION OF EXUDATIVE EPIDERMITIS AND EAR NECROSIS IN PIGS*.
- Park, Jeonghwa, Friendship, Robert M, Poljak, Zvonimir, DeLay, Josepha, Slavic, Durda, & Dewey, Catherine E (2013b). An investigation of ear necrosis in pigs. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 54(5), 491–495.
- Park, Jeonghwa, Friendship, Robert M, Poljak, Zvonimir, Weese, J Scott, & Dewey, Cate E (2013a). Article An investigation of exudative epidermitis (greasy pig disease) and antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus aureus* isolated from clinical cases. In *CVJ* (Vol. 54).
- Pejsak, Z., Markowska-Daniel, I., Pomorska-Mól, M., Porowski, M., & Kołacz, R. (2011). Ear necrosis reduction in pigs after vaccination against PCV2. *Research in Veterinary Science*, 91(1), 125–128. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.08.015>
- Peng, Jie, Tang, Yimei, & Huang, Yanhua (2021, June 1). Gut health: The results of microbial and mucosal immune interactions in pigs. *Animal Nutrition*, Vol. 7, pp. 282–294. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.01.001>
- Penny, R H C, & Mullen, P A (1976). Ear biting in pigs. In *Veterinary Annual*.
- Pereira O. (2014). Fluoroquinolonas como Inibidoras das Topoisomerasas de *Leishmania Infantum*. Dissertação. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Petersen, H. H., Nielsen, E. O., Hassing, A-G., Ersbøll, A. K., & Nielsen, J. P. (2008). Prevalence of clinical signs of disease in Danish finisher pigs. *Veterinary Record*, 162(12), 377–382. <https://doi.org/10.1136/vr.162.12.377>
- Pringle, Märit, Backhans, Annette, Otman, Faruk, Sjölund, Marie, & Fellström, Claes (2009). Isolation of spirochetes of genus *Treponema* from pigs with ear necrosis. *Veterinary Microbiology*, 139(3), 279–283. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.05.018>
- Quinn Amy, & O’Driscoll Keelin (2016). Tackling some of the puzzling grower health disorders. *Pig Farmers Conference 2016*, 3–11. County Tipperary: Teagasc.
- Rhouma, Mohamed, Fairbrother, John Morris, Beaudry, Francis, & Letellier, Ann (2017, May 19). Post weaning diarrhea in pigs: Risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Vol. 59. <https://doi.org/10.1186/s13028-017-0299-7>
- Richardson, J. A., Morter, R. L., Rebar, A. H., & Olander, H. J. (1984). Lesions of Porcine Necrotic Ear Syndrome. *Veterinary Pathology*, 21(2), 152–157. <https://doi.org/10.1177/030098588402100203>
- Ritchie H., & Roser M. (2017). Meat and Dairy Production. *Our World in Data*. Retrieved from <https://ourworldindata.org/meat-production>
- Romero, A C Z ;, Borges, D L A ;, Castro, J C ;, Biazon, M P ;, Ferreira, T Y ;, & Costa, I B (2018). *REVISÃO DE LITERATURA: ABORDAGEM DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS NA AVICULTURA*.
- Sawamura, Soichiro, Niimori, Daisuke, & Ihn, Hironobu (2018). A case of leg cellulitis caused by multidrug-resistant *Streptococcus pseudoporcinus*. *Intractable & Rare Diseases Research*, 7(4), 280–282. <https://doi.org/10.5582/irdr.2018.01110>
- Segura, Mariela, Fittipaldi, Nahuel, Calzas, Cynthia, & Gottschalk, Marcelo (2017). Critical *Streptococcus suis* Virulence Factors: Are They All Really Critical? *Trends in Microbiology*, 25(7), 585–599. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.02.005>

- Shahbandeh M. (2021). Meat consumption worldwide from 1990 to 2021, by meat type. Retrieved November 28, 2021, from site da Statista: <https://www.statista.com/statistics/274522/global-per-capita-consumption-of-meat/>
- S.O.S. Paiva (2019). DRAPN considera que suinicultura da Mealha está legal e a funcionar normalmente.
- Stevens, Dennis L., & Bryant, Amy E. (2016). *Impetigo, Erysipelas and Cellulitis* (OUHSC; Ferretti JJ, Stevens DL, & Fischetti VA, Eds.). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333408/>
- Teixeira, Jéssica, & Simões, Rodrigo (2013). MICOTOXINAS – UM RISCO INVISÍVEL À SAÚDE DE HOMENS E ANIMAIS. *Jornadas de Ensino, Pesquisa e Extensão*, 3. Recife.
- van Staaveren, Nienke, Calderón Díaz, Julia Adriana, Garcia Manzanilla, Edgar, Hanlon, Alison, & Boyle, Laura Ann (2018). Prevalence of welfare outcomes in the weaner and finisher stages of the production cycle on 31 Irish pig farms. *Irish Veterinary Journal*, 71(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s13620-018-0121-5>
- Verhelst, R., Schroyen, M., Buys, N., & Niewold, T. (2014). Dietary polyphenols reduce diarrhea in enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) infected post-weaning piglets. *Livestock Science*, 160, 138–140. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.11.026>
- Virbac (2022). Complexo Respiratório Suíno. Retrieved April 2, 2022, from <https://pt.virbac.com/home/doencas/complexo-respiratorio-suino.html?preventiframercaching=1>
- Wang, Qun, Cai, Rujian, Huang, Anni, Wang, Xiaoru, Qu, Wan, Shi, Lei, ... Yan, He (2018). Comparison of Oropharyngeal Microbiota in Healthy Piglets and Piglets With Respiratory Disease. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03218>
- Wattanaphansak, Suphot, Morrison, Robert, Larriestra, A J, Wattanaphansak, S, Neumann, E J, Bradford, J, ... Deen, J (2006). Pig characteristics associated with mortality and light exit weight for the nursery phase. In *Can Vet J* (Vol. 47). Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/6976943>
- Weissenbacher-Lang, C., Voglmayr, T., Waxenecker, F., Hofstetter, U., Weissenböck, H., Hoelzle, K., ... Ritzmann, M. (2012). Porcine ear necrosis syndrome: A preliminary investigation of putative infectious agents in piglets and mycotoxins in feed. *Veterinary Journal*, 194(3), 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.05.026>
- White, Mark (2012). *Pig Health-Ear Tip Necrosis*. Retrieved from www.nadis.org.uk
- Woods, Abigail (2012). Rethinking the history of modern agriculture: British pig production, c.1910-65. *Twentieth Century British History*, 23(2), 165–191. <https://doi.org/10.1093/tcbh/hwr010>

Anexos

Composição		Valor Nutricional por 100 g	
Dextrose Eq.	40%	Valor energético	388 kcal
Cinza Total	< 0,4%	Sódio	56 mg
SO ₂	< 0,004%	Proteínas	< 0,1 g
pH (solução 10%)	4.5 a 5.5	Carboidratos	97 g
Humidade	< 3%	Gorduras e fibras	0
Perfil de açúcares em percentagem de matéria seca		%	
Dextrose		16,5	
Maltose		13,5	
Maltotriose		11	
Polissacarídeos		59	

Anexo 1. Composição e valor nutritivo do suplemento dado às porcas pós-desmame (Dextrose).

Valor Nutritivo (%)		Composição em Aditivos por Kg	
Proteína Bruta	12,5	Vitamina A	10000 U.I.
Gordura Bruta	2,8	Vitamina D3	1000 U.I.
Celulose Bruta	7,7	Vitamina E	45 U.I.
Metionina	0,21	Óxido de zinco	90 P.P.M
Lisina	0,68	Quelato de zinco	35 P.P.M
Cinza Total	5,7	Ferro	100 P.P.M
Cálcio	0,9	Manganês	50 P.P.M
Fósforo	0,53	Cobre	10 P.P.M
Sódio	0,29	Iodo	1 P.P.M
Composição em Matérias Primas *		Selenito	0,14 P.P.M
Cevada, Milho OGM, Semea de Trigo, Trigo, Bag, Girassol, Luzerna, Polpa de Beterraba Sacarina, Carbonato de Cálcio, Cloreto de Sódio, Banha, Fosfato MonoCalcico		Selénio	0,06 P.P.M
		6-Fitasa	10 FYT

Anexo 2. Composição e valor nutritivo do alimento composto para as porcas pré-parto. * por ordem decrescente de incorporação

Valor Nutritivo (%)		Composição em Aditivos por Kg	
Proteína Bruta	16,5	Vitamina A	12000 U.I.
Gordura Bruta	4,25	Vitamina D3	2000 U.I.
Celulose Bruta	5,7	Vitamina E	50 mg
Metionina	0,38	Oxido de zinco	140 mg
Lisina	1,1	Quelato de zinco	-
Cinza Total	5,6	Ferro	90 mg
Cálcio	1	Manganês	40 mg
Fosforo	0,58	Cobre	35 mg
Sódio	0,2	Iodo	1 mg
Composição em Matérias Primas *		Selenito	0,14 mg
Milho OGM, Cevada, Bagaço de Soja OGM, Bagaço de Girassol, Trigo, Bagaço de Colza, Bagaço de Palmiste, Óleo de Soja OGM, Carbonato de Cálcio, Cloreto de Sódio, Fosfato Monocálcico		Selénio	0,3 mg
		6-Fitasa	500 FYT

Anexo 3. Composição e valor nutritivo do alimento composto para as porcas em lactação. * por ordem decrescente de incorporação