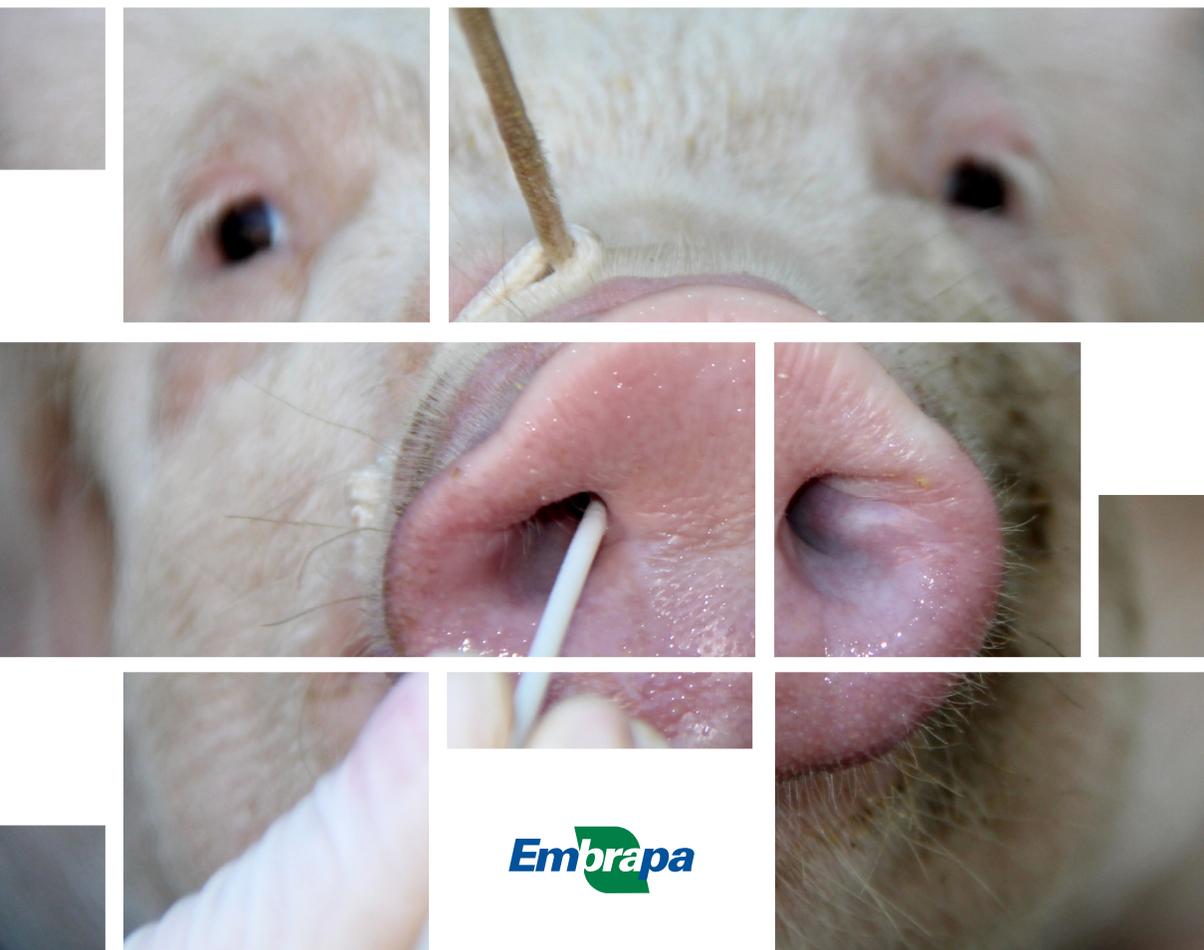


Como identificar e controlar a influenza em suínos



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Suínos e Aves
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

DOCUMENTOS 207

Como identificar e controlar a influenza em suínos

*Rejane Schaefer
Danielle Gava
Janice Reis Ciacci Zanella*

Autoras

***Embrapa Suínos e Aves
Concórdia, SC
2019***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Suínos e Aves
Rodovia BR 153 - KM 110
Caixa Postal 321
89.715-899, Concórdia, SC
Fone: (49) 3441 0400
Fax: (49) 3441 0497
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Suínos e Aves

Presidente
Marcelo Miele

Secretária-Executiva
Tânia Maria Biavatti Celant

Membros
Airton Kunz, Ana Paula Almeida Bastos, Gilberto Silber Schmidt, Gustavo Julio Mello Monteiro de Lima, Monalisa Leal Pereira

Supervisão editorial
Tânia Maria Biavatti Celant

Revisão técnica
*Clarissa Silveira Luiz Vaz
Luizinho Caron*

Revisão de texto
Lucas Scherer Cardoso

Normalização bibliográfica
Claudia Antunes Arrieche

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Vivian Fracasso

Foto da capa
Raquel Rubia Rech

1ª edição
Versão eletrônica (2019)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Suínos e Aves

Schaefer, Rejane

Como identificar e controlar a influenza em suínos / Rejane Schaefer; Danielle Gava; Janice Reis Ciacci Zanella. - Concórdia : Embrapa Suínos e Aves, 2019.

36 p.; 21 cm. (Documentos / Embrapa Suínos e Aves, ISSN 01016245; 207).

1. Sanidade Animal. 2. Suíno. 3. Vírus. 4. Infecção respiratória. 5. Prevenção. 6. Controle integrado. I. Série. II. Schaefer, Rejane. III. Gava, Danielle. IV. Zanella, Janice Reis Ciacci.

CDD. 636.089 69

© Embrapa, 2019

Autores

Rejane Schaefer

Médica Veterinária, doutora em Ciências Veterinárias, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

Danielle Gava

Médica Veterinária, doutora em Ciências Veterinárias, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

Janice Reis Ciacci Zanella

Médica Veterinária, doutora em Virologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

Apresentação

A influenza causa um grande impacto econômico na produção de suínos devido a perdas diretas pelo aumento de mortalidade e da conversão alimentar e perdas indiretas pelo aumento do custo com antimicrobianos para combater infecções secundárias. Tendo como objetivos a detecção e caracterização genética dos vírus influenza que circulam em suínos no Brasil, a Embrapa Suínos e Aves tem se dedicado a estudar este agente viral em seus projetos de pesquisa. Os projetos realizados desde 2004 possibilitaram o desenvolvimento e validação de técnicas de diagnóstico molecular, isolamento viral, diagnóstico sorológico, produção de insumos biológicos para a pesquisa e caracterização antigênica e genética dos vírus influenza A. Os resultados gerados permitiram um avanço no conhecimento sobre os vírus que circulam em suínos no Brasil, trazendo subsídios para a pesquisa e foco para futuros projetos visando o controle da doença em suínos.

O objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão sobre os vírus influenza A, trazendo dados sobre a influenza em suínos no Brasil, fruto da pesquisa desenvolvida pela Embrapa e outras instituições de pesquisa. Este trabalho aborda aspectos importantes sobre a ocorrência da influenza A em suínos, contendo informações sobre a diversidade genética viral, dinâmica da infecção em rebanhos suínos e discutindo alternativas para o controle da doença em suínos.

Rejane Schaefer

Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves

Sumário

Introdução.....	9
Como surgem novos vírus influenza	10
O papel dos humanos na geração de novos vírus influenza em suínos.....	12
Como identificar a influenza em suínos? Qual é o impacto da presença da influenza em rebanhos suínos?.....	14
Ocorrência do vírus influenza A em rebanhos suínos no Brasil	16
A influenza em suínos e a saúde pública	18
Como os vírus influenza se mantêm em rebanhos suínos?	20
Orientações para o diagnóstico da influenza em suínos.....	22
Controle da influenza em suínos	26
O controle da influenza com o uso de vacinas.....	28
Considerações finais	29
Referências	30

Introdução

Na suinocultura, as infecções respiratórias são o principal problema sanitário a ser controlado, tendo como consequências a redução da produtividade e do ganho de peso, aumento da mortalidade e dos custos com medicamentos antimicrobianos, sem mencionar as questões relacionadas ao bem-estar animal (Torremorell et al., 2009). Estas infecções são referidas como complexo de doenças respiratórias dos suínos (*porcine respiratory disease complex*, PRDC), o qual é multifatorial e causado por infecção simultânea com dois ou mais patógenos (virais e/ou bacterianos), além de fatores não infecciosos associados ao manejo, como densidade animal, controle insuficiente da temperatura, mistura de leitões de várias origens e outros (Hansen et al. 2010; Opriessnig et al., 2011; Chae, 2016). Dentre os agentes virais, o vírus influenza é considerado como um dos agentes primários mais importantes no PRDC. Este vírus é composto por um genoma de RNA de fita simples, segmentado, e pertence à família *Orthomyxoviridae*. Existem sete genótipos descritos para os vírus pertencentes a esta família, contudo apenas o vírus influenza A (IAV) causa doença clínica em suínos.

Embora o Brasil tenha uma das maiores populações de suínos do mundo (~41 milhões de cabeças), antes de 2009 havia poucas evidências da circulação do vírus influenza A (IAV) em rebanhos brasileiros. Após a detecção do vírus influenza pandêmico H1N1 (H1N1pdm09) em 2009 (Schaefer et al., 2011; Rajão et al., 2013), os esforços de diagnóstico e pesquisa da influenza em suínos no país aumentaram. Com isto, novos vírus influenza começaram a ser detectados em granjas localizadas em vários estados brasileiros. Em 2011, foram isolados em suídeos, pela primeira vez no Brasil, IAVs dos subtipos H1N2 e H3N2 (Biondo et al., 2014; Schaefer et al. 2015).

Como surgem novos vírus influenza

Os IAVs são classificados em subtipos de acordo com a reatividade sorológica das glicoproteínas de superfície: a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA) (Figura 1), que são os maiores alvos da resposta imune do hospedeiro (Van Reeth; Vincent, 2019). A grande variabilidade genética dos vírus influenza é devido a dois mecanismos genéticos: mutações pontuais ou *antigenic drift* (Figura 2A) e rearranjo gênico ou *reassortment*, também chamado de *antigenic shift* (Figura 2B). As mutações pontuais ocorrem devido à alta taxa de frequência de erros introduzidos pela enzima RNA polimerase do vírus durante o processo de cópia do genoma para a replicação viral. Como resultado deste processo, são observadas mutações pontuais frequentes nos diferentes genes (*antigenic drift*) (Shaw; Palese, 2013). Quando estas mutações ocorrem nos genes que codificam as glicoproteínas HA e NA, podem ocorrer alterações nos sítios reconhecidos por anticorpos neutralizantes, permitindo ao vírus escapar da resposta imune do hospedeiro, garantindo a sua perpetuação e transmissão a novos hospedeiros. Devido à natureza segmentada do genoma dos vírus influenza, também podem ocorrer trocas de segmentos gênicos entre vírus parentais, quando uma célula do hospedeiro é infectada com dois (ou mais) IAVs diferentes. Este mecanismo é conhecido como *antigenic shift* ou rearranjo genético, permitindo a geração de uma progênie de vírus com uma nova combinação de genes (Brown, 2000; Olsen, 2002; Vincent et al., 2009), e possibilitando uma rápida evolução dos vírus influenza. Desta forma, o *antigenic drift* (mudanças menores em nível de aminoácidos) e *antigenic shift* (rearranjos em nível de fragmentos gênicos) são fenômenos importantes para o surgimento de novos vírus de influenza. Além desses, a transmissão direta entre espécies e a reemergência de um subtipo ou genotipo previamente caracterizado são também importantes para o surgimento de novos IAVs no rebanho suíno. Apesar da transmissão interespecies do IAV ocorrer, existe uma grande barreira de transmissão entre espécies (Neumann; Kawaoka, 2006; Landolt; Olsen, 2007), particularmente entre aves e mamíferos. Assim, apenas um número muito restrito de subtipos de HA tornou-se endêmico em mamíferos (por exemplo, H1, H2 e H3 em humanos; H1 e H3 em suínos; H3 e H8 em equinos). Em contraste, 16 HA e 9 NA dos vírus influenza foram encontrados em aves aquáticas silvestres, consideradas o reservatório global do vírus influenza A na natureza (Webby;

Webster, 2001). Em mamíferos, os IAVs ligam-se ao receptor celular contendo ácido siálico através da glicoproteína viral HA e replicam principalmente nas células epiteliais do trato respiratório, geralmente acompanhados de sinais clínicos de doença respiratória aguda. Em nível molecular os IAVs de humanos e de suínos têm preferência por receptores de ácido siálico ligados a resíduos de galactose alfa2,6, já os IAVs de aves preferem os receptores alfa2,3 (Van Reeth; Vincent, 2019).

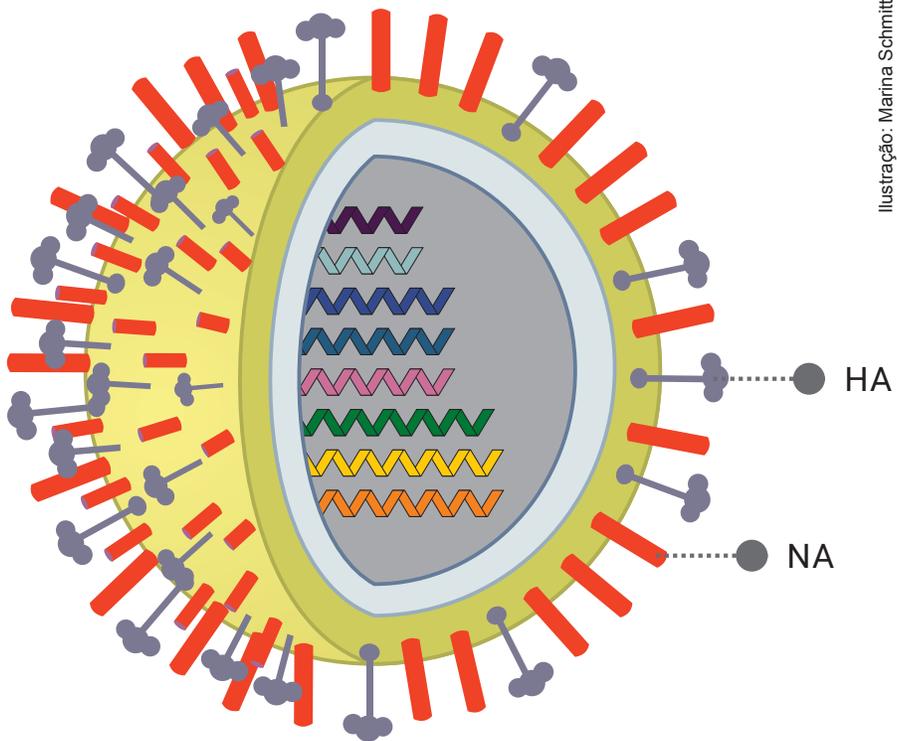


Figura 1. Diagrama do vírus influenza A mostrando as glicoproteínas HA e NA ancoradas no envelope viral.

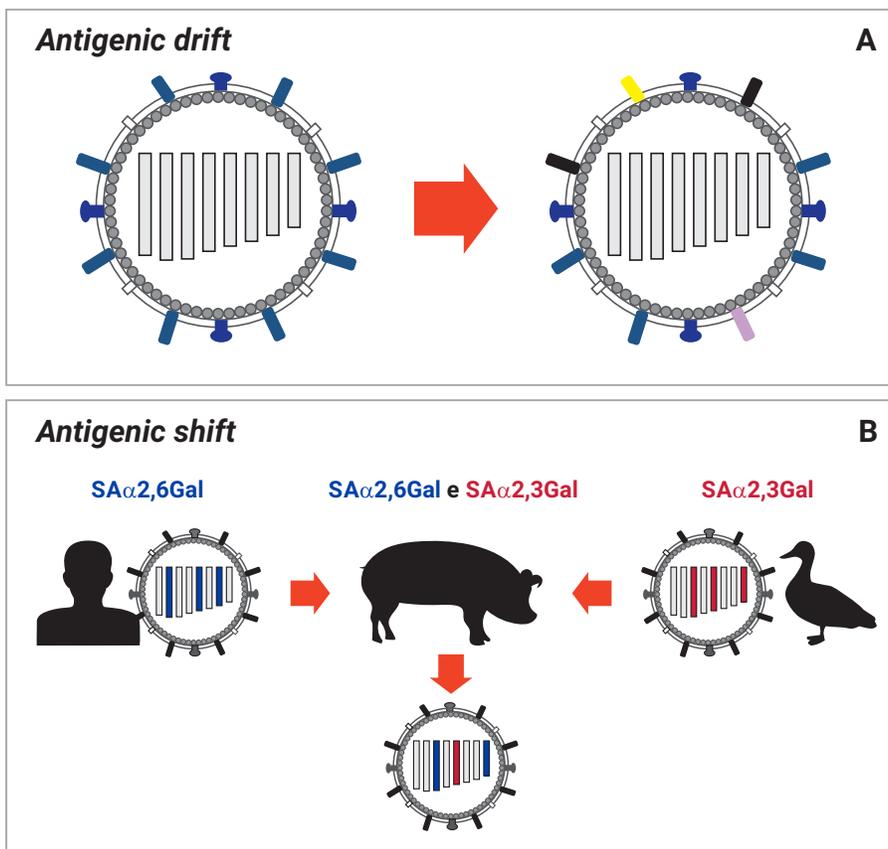


Figura 2. Mecanismos genéticos responsáveis pela diversidade viral dos vírus influenza A: *antigenic drift* e *antigenic shift*.

O papel dos humanos na geração de novos vírus influenza em suínos

Pela similaridade de receptores e possibilidade de compartilhamento de subtipos virais (por ser a influenza uma zoonose), dentre outros, as infecções em humanos causadas por IAVs de suínos de vários subtipos, linhagens e genótipos já foram relatadas (Van Reeth, 2007), particularmente com os vírus H3N2, H1N2 e H1N1 das linhagens norte-americanas com rearranjo triplo (Jhung et al., 2013). Porém, o número de infecções documentadas é pe-

queno comparado com o número de pessoas em contato com suínos em todo o mundo. As evidências para a propagação de IAV da linhagem suína entre humanos são escassas (Jhung et al., 2013), embora a pandemia de 2009 seja diferente nesse sentido. O vírus H1N1pdm09 provavelmente surgiu através de um rearranjo gênico entre IAV de suínos da América do Norte e linhagens de origem suína da Eurásia (Smith et al., 2009; Mena et al., 2016), seguida pela transmissão de suínos para humanos, transmissão de humano para humano e disseminação global por seres humanos (Dawood et al., 2009; Garten et al., 2009; Chowell et al., 2011; Mena et al., 2016). No entanto, alguns estudos realizados detectaram anticorpos contra IAV de origem suína em soro de humanos, sugerindo que as infecções por esses vírus podem ser comuns e não diagnosticadas (Olsen et al., 2002; Gray et al., 2007; Terebuh et al., 2010).

O sequenciamento genômico mostrou que muitas linhagens suínas contêm segmentos de vírus humanos sazonais (Nelson et al., 2015a, b, c). Vários estudos demonstraram que vírus humanos foram transmitidos para suínos e permaneceram sem serem detectados por décadas em populações suínas. A transmissão para suínos de vírus H3N2 e H1N1 sazonal humano em diferentes momentos, em diferentes regiões geográficas e com rearranjo, e a posterior evolução nos suínos resultaram em um aumento da diversidade genética dos IAVs de suínos circulando globalmente nos dias atuais. Os vírus H1N1, H1N2 e H3N2 mantidos em populações suínas em todo o mundo são principalmente resultado de rearranjo gênico, com uma mistura de genes de origem humana e suína adaptados, com distintas propriedades genéticas do HA com base no ano de introdução do vírus de humanos para suínos (ou de aves para suínos no caso da linhagem aviária H1N1 da Eurásia). Isso permite a discriminação entre isolados de IAV suíno de diferentes regiões, bem como a discriminação entre vírus suínos adaptados de IAV de humanos contemporâneo sazonal (Van Reeth; Vincent, 2019).

A distribuição dos subtipos e genótipos dos IAVs de suínos variam muito entre as regiões geográficas, com exceção do H1N1pdm09, que é amplamente distribuído - em grande parte através da reintrodução repetida de humanos para suínos (Van Reeth; Vincent, 2019). Além disso, o H1N1pdm09 incorporou vários genes de vírus de influenza endêmicos na região onde iniciou a circular, gerando assim novas progênes (Nelson et al., 2015a, b, c).

Com relação à reação antigênica cruzada, esta é maior entre os IAVs de suínos e os vírus humanos precursores do que quando comparada aos vírus contemporâneos da influenza humana sazonal (De Jong et al., 1999; De Jong et al., 2007; Kyriakis et al., 2011). Contudo, análises antigênicas de várias linhagens de IAV suíno e comparações com linhagem precursora humana revelaram uma grande quantidade de diversidade antigênica no IAV suíno, em geral devido aos frequentes eventos de transmissão de humanos para suínos, o que deram origem a múltiplas linhagens endêmicas, bem como a separação geográfica de populações dos suínos (Lewis et al., 2016). Assim, os suínos podem atuar como reservatórios para HAs (de origem humana) mais antigas e que já não circulam na população humana. Vários estudos demonstraram a ausência de detecção de anticorpos protetores em soros de humanos analisados contra IAV de origem suína em pessoas nascidas após a circulação dos respectivos vírus precursores humanos (Qiu; Van Reeth, 2015; Banguru et al., 2016). Os IAVs suínos, portanto, representam uma ameaça de reintrodução na população humana, uma vez que a imunidade tenha diminuído, permitindo a ampla disseminação dos vírus suínos em humanos.

Como identificar a influenza em suínos? Qual é o impacto da presença da influenza em rebanhos suínos?

Na ocorrência de uma epidemia de influenza, quando o vírus entra em um rebanho sem imunidade prévia (suínos soronegativos), a doença é caracterizada por surtos de infecção respiratória aguda podendo atingir 100% de morbidade. Os sinais clínicos observados são hipertermia (40,5°C - 41,5°C), anorexia, relutância do suíno em levantar-se, taquipneia e após alguns dias, observa-se tosse (Van Reeth; Vincent, 2019). Nestes casos, o impacto da doença é variável, sendo afetado por fatores como a idade do suíno, a presença de infecção, as condições climáticas, tipo de instalação, o manejo adotado e presença de doenças concomitantes. Durante surtos epidêmicos pode ocorrer aumento de casos de pneumonia devido a infecções secundárias por bactérias como *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Haemophilus parasuis* e *Streptococcus suis* tipo 2, além de um aumento no número de abortamentos e retorno irregular

ao estro (até 15%) devido à ocorrência de hipertermia nas fêmeas (Valls et al., 2016).

Em rebanhos parcialmente imunes ao vírus, os sinais clínicos da infecção não são evidentes, mas a presença do vírus pode afetar o desempenho do rebanho pelo aumento da taxa de conversão alimentar. Os suínos infectados consomem uma quantidade maior de ração e necessitam de um maior tempo para atingir o peso de abate quando comparados a suínos não infectados pelo vírus.

Em situações onde a infecção é endêmica em suínos, onde surtos periódicos de doença respiratória são observados ao longo do tempo em uma granja, o impacto na produção é mais difícil de ser estimado, uma vez que pode haver interação com outros patógenos. Nestes casos, é observado um aumento da mortalidade (até 2%) e diminuição do peso final dos leitões ao desmame (cerca de 10 a 30% a menos) (Gillespie et al. 1999; Torremorell et al. 2009). Também deve ser considerado um aumento indireto do custo pelo tratamento com antimicrobianos para controlar as infecções bacterianas secundárias. De acordo com um estudo realizado pelo grupo de epidemiologia e doenças infecciosas da Universidade Autônoma de Barcelona (dados não publicados), o impacto econômico da influenza na terminação de suínos é ainda maior, onde o tempo médio de produção em lotes afetados pelo vírus influenza é aumentado em +3 dias, o número total de dias de ocupação da instalação é aumentado em +2,5 dias, e a taxa de mortalidade também é maior (+24,6%). As perdas estimadas em lotes afetados por surtos de influenza são de aproximadamente 0,66 € (cerca de R\$ 3,00, na cotação do início de novembro de 2019) por suíno.

Ainda, de acordo com estimativas feitas pelo *National Pork Board* dos EUA, entre 24 de abril e 02 de maio de 2009, período caracterizado pela emergência do vírus influenza H1N1pdm09, os produtores de suínos tiveram perdas na ordem de US\$ 13,64 (aproximadamente R\$ 56,00) por suíno devido à infecção pelo vírus e a indústria acumulou perdas diárias de US\$ 7,2 milhões (cerca de R\$ 29,7 milhões, na mesma cotação) (KHAN et al., 2013). O impacto estimado da infecção subclínica causada pelo vírus influenza H1N1pdm09 na produção de um lote de 150 suínos (dos 33 aos 100 kg) na Noruega, que não apresentava imunidade prévia ao vírus, foi de 9,5 kg de ração extra por animal e 2,5 dias extras de produção. Esta situação foi evidenciada quan-

do os suínos foram infectados pelo IAV durante a fase de terminação (Er et al., 2016). Transpondo este cenário para a produção brasileira, o impacto provavelmente seria maior, pois os lotes de suínos são maiores, a mistura de suínos de várias origens é comum, assim como a presença de co-infecção por outros patógenos respiratórios, como *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida* e PCV2, o que acaba agravando os casos clínicos e aumentando os custos de produção.

Ocorrência do vírus influenza A em rebanhos suínos no Brasil

O primeiro registro de isolamento do vírus influenza em suínos no Brasil foi em 1974, a partir de pulmões colhidos em abatedouro (Cunha et al., 1978). Desde então, a influenza é considerada endêmica em suínos, onde pesquisas subsequentes realizadas entre 1996 e 2010 indicaram a presença de anticorpos contra os vírus clássicos (cluster α) H1N1 e H3N2 em soro de suínos de granjas localizadas em vários estados brasileiros (Brentano et al., 2002; Zanella et al., 2011; Rajão et al., 2012). Entre 2005 e 2006 um estudo realizado em 29 granjas no estado de Santa Catarina detectou por RT-PCR um gene conservado do vírus influenza A em amostras de secreção nasal de leitões de creche, porém não foi possível isolar o vírus a partir destas amostras (Schaefer et al., 2008).

Surtos de doença respiratória aguda em suínos causados pelo vírus influenza A começaram a ser mais frequentemente observados a partir de 2009, em vários estados brasileiros (Figura 3), coincidindo com a pandemia de influenza em humanos causada pelo vírus H1N1pdm09. Na ocasião, o vírus H1N1pdm09 foi isolado de pulmões de suínos infectados (Schaefer et al. 2011; Rajão et al., 2013). Estudos pós-pandemia evidenciaram o vírus influenza como o patógeno viral detectado com maior frequência em casos de infecção respiratória em suínos no Brasil (Watanabe et al., 2012; Silva et al., 2013).

Desde então, como resultado da pesquisa realizada no Brasil, uma grande diversidade genética dos vírus influenza que circulam em suínos tem sido detectada, particularmente nos genes que codificam as glicoproteínas de su-



Ilustração: Marina Schmitt

Figura 3. Estados onde o vírus influenza A já foi diagnosticado em suínos (2009 a 2019).

perfície HA e NA (Nelson et al., 2015c). Desde 2011, têm sido isolados de suínos, além do vírus H1N1pdm09, os subtipos H1N2 e H3N2 (Biondo et al., 2014; Schaefer et al., 2015; Schmidt et al., 2015, Zanella et al., 2015). A análise realizada revelou que os vírus suínos do subtipo H3N2 possuem um ancestral comum e são intimamente relacionados ao vírus da influenza sazonal que circulou em humanos no final da década de 1990. Os vírus suínos do subtipo H1N2 também possuem um ancestral comum, conforme revelado pela análise do gene HA, e estão intimamente relacionados ao vírus H1N2 que circulou em humanos entre 2001 e 2003. Na filogenia do gene N2, os vírus suínos brasileiros até então analisados, dos subtipos H1N2 e H3N2,

são intimamente relacionados ao vírus sazonal H3N2 que circulou em humanos no final da década de 1990. As análises realizadas estimam que dois diferentes vírus H3N2 foram introduzidos em suínos no final de 1990 e um vírus H1N2 de origem humana foi introduzido em suínos no início de 2000, o que sugere a circulação do vírus influenza em suínos no Brasil há mais de 15 anos (Nelson et al., 2015c). Por outro lado, a análise do gene HA do vírus H1N1pdm09 revelou que este vírus foi introduzido em suínos a partir de seres humanos pelo menos oito vezes desde 2009, permitindo a ocorrência de rearranjo gênico entre os seis segmentos internos do vírus H1N1pdm09 e os genes HA e NA de vírus dos subtipos H3N2 e H1N2, aumentando ainda mais a diversidade genética dos vírus encontrados em suínos no Brasil. Não foi encontrada nenhuma evidência de que os vírus da influenza suína endêmicos na América do Norte ou em outros países latino-americanos circulem no Brasil, apesar de toda a diversidade viral observada em humanos (Nelson et al., 2015c) (Figura 4).

A influenza em suínos e a saúde pública

A importância do diagnóstico e da pesquisa da influenza vai além do impacto econômico negativo que essa doença causa na produção de suínos. Os vírus influenza A infectam suínos e outras espécies, incluindo o homem, e por isso a influenza é considerada uma zoonose e de extrema importância para a saúde pública. A influenza em suínos não é uma doença de notificação obrigatória da lista da OIE, porque causa doença com sinais clínicos leves em suínos (em infecções endêmicas e desde que não ocorram infecções secundárias) e a transmissão para pessoas é pouco frequente (Olsen et al., 2002; Nelson; Vincent, 2015). Durante a pandemia de influenza em humanos em 2009 ocorreu concomitantemente a infecção em suínos com o mesmo vírus no mundo inteiro (Hofshagen et al., 2009; Howden et al., 2009; Pasma; Joseph, 2009; Moreno et al., 2010; Pereda et al., 2010; Holyoake et al., 2011; Njabo et al., 2012), inclusive no Brasil (Schaefer et al., 2011), comprovando a transmissão do vírus H1N1pdm09 de humanos para suínos (Forgie et al. 2011). Naquela ocasião, a pandemia pelo vírus H1N1pdm09 foi designada como “gripe suína” (Gauger et al., 2012), trazendo prejuízos ao comércio de carne suína. Embora os genes do vírus H1N1pdm09 sejam provenientes de linhagens de vírus da influenza suína da América do Norte e Eurásia (Garten et al., 2009;

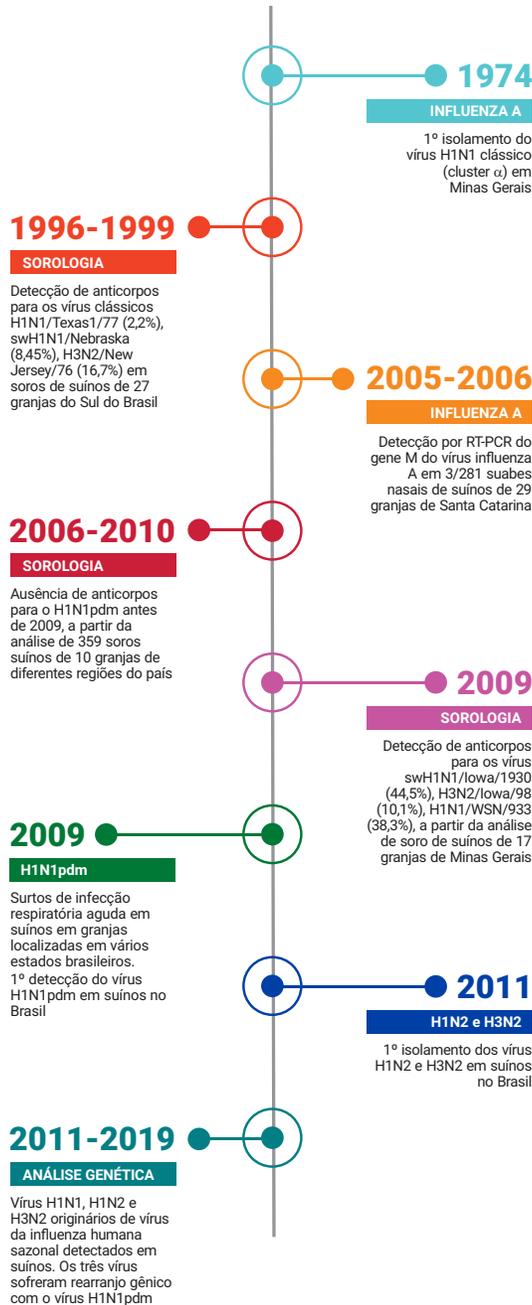


Figura 4. Histórico da influenza A em suínos no Brasil.

Smith et al., 2009), não havia evidências até então de que esse vírus estivesse circulando em suínos antes de ocorrer a pandemia em humanos (Yoon, 2011). A grande preocupação em saúde pública é que os suínos são considerados a espécie onde o vírus influenza sofre rearranjos ou trocas de genes virais com maior facilidade, originando novos vírus influenza, como tem sido observado recentemente (Ducatez et al., 2011; Moreno et al., 2011; Liu et al., 2012; Schaefer et al., 2015). Estes eventos de rearranjo gênico permitem que os vírus evoluam rapidamente e de forma inesperada. Em humanos, embora a maioria dos eventos zoonóticos seja restrita a casos individuais e esporádicos, sem evidências de transmissão viral sustentada entre humanos, na eventualidade de um vírus zoonótico adquirir a habilidade de ser transmitido de uma pessoa infectada a uma pessoa suscetível, este fato poderia marcar o início de uma pandemia de influenza (Short et al., 2015), como ocorreu em 2009. De acordo com dados publicados por pesquisadores do CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*), o vírus H1N1pdm09 resultou na morte de entre 151.700 e 575.400 pessoas no mundo inteiro, no primeiro ano de circulação viral, sendo que mais da metade das mortes ocorreu no Sudeste Asiático e na África (Dawood et al., 2012). Um estudo publicado em 2016 revelou que o vírus pandêmico H1N1pdm09 foi originado em suínos no México, região que não era considerada como sendo de risco pandêmico, uma vez que apresenta uma situação epidemiológica diferente da Ásia, região onde existe uma grande concentração de várias espécies de mamíferos e aves vivendo em proximidade. O mesmo estudo revelou também a importância do transporte internacional de suínos na geração da diversidade genética viral (Mena et al., 2016).

Como os vírus influenza se mantêm em rebanhos suínos?

Embora a influenza possa ser observada em granjas durante o ano todo (Hinshaw et al., 1978; Olsen et al., 2000; Kyriakis et al., 2011), alguns estudos têm sugerido que a influenza é uma doença com ocorrência sazonal. Chamba Pardo et al. (2017), ao avaliar 34 granjas de ciclo completo, localizadas no meio-oeste americano por um período de cinco anos, observaram que o número de casos de influenza aumentava no outono, atingindo um

pico máximo no início do inverno e no final da primavera. Os maiores índices de circulação viral estavam relacionados com a baixa temperatura e baixa umidade do ar, e circulação concomitante de diferentes subtipos virais foi evidenciada pelo estudo.

O tipo de sistema de produção tem impacto na dinâmica de infecção do IAV em rebanhos de suínos de terminação. Em granjas de ciclo completo, a incidência de influenza é maior no início da fase de terminação e, em granjas terminadoras, a incidência da doença é maior no final da fase de terminação. A maior incidência da influenza em fases distintas da produção provavelmente é devido a diferenças no período de exposição dos suínos ao vírus. Além disso, as matrizes e especialmente os leitões desmamados são considerados reservatórios para a circulação contínua dos IAVs nos rebanhos (Loeffen et al., 2009). Ainda, de acordo com White et al. (2017), os leitões são os responsáveis por manter a influenza endêmica em granjas, mesmo em rebanhos considerados pequenos (500 suínos).

A movimentação de suínos é um fator importante para a introdução do vírus nos rebanhos. A principal via de transmissão é o contato direto com secreções oronasais infectadas com o vírus, com títulos de até 1×10^7 partículas infecciosas/mL no pico da excreção nas secreções nasais (Qiu; Van Reeth, 2015). Além disso, a detecção do vírus em aerossóis durante a ocorrência de surtos em suínos demonstrou quantidades significativas de vírus no ar. Assim, a presença do vírus em aerossóis pode ser uma fonte de infecção e um risco de exposição aos humanos durante os surtos (Neira et al., 2016), podendo contribuir nas infecções por IAV suíno em granjas com alta biossegurança. Nos rebanhos reprodutores, os IAVs são detectados com mais frequência em leitões de reposição e em leitões lactentes do que em porcas mais velhas (Diaz et al., 2015). Nas granjas de ciclo completo, o vírus pode persistir na fase de crescimento devido à introdução contínua de leitões suscetíveis com níveis decrescentes de imunidade (Loeffen et al., 2009).

Orientações para o diagnóstico da influenza em suínos

O diagnóstico da influenza em suínos não pode ser baseado apenas nos sinais clínicos, uma vez que os mesmos sinais podem ser observados em outras doenças. Portanto, a presença do agente etiológico deve ser confirmada pela detecção do vírus, ou do ácido nucleico viral, ou pela presença de proteínas virais. Neste sentido, o sucesso do diagnóstico da influenza em suínos depende de alguns fatores, como a escolha do animal para a amostragem, a correta colheita das amostras biológicas, o armazenamento adequado das amostras e o envio rápido das mesmas ao laboratório de diagnóstico (Tabela 1) (Schaefer et al., 2013). Devem-se conhecer as fases da infecção viral no suíno, englobando desde a infecção primária, período de incubação do vírus, fase de excreção/eliminação viral nas secreções respiratórias e resposta imune do hospedeiro. Suínos infectados excretam o vírus pelas secreções respiratórias 24 horas - 48 horas pós-infecção e continuam a eliminar o vírus por cinco ou até oito dias após a infecção (dpi). Um aumento na temperatura corporal (hipertermia) pode ocorrer 24 horas pós-infecção, e é um bom indicador da fase aguda da infecção. Testes diagnósticos para detecção viral devem ser aplicados em amostras biológicas coletadas durante a fase aguda da infecção (6 dpi - 8 dpi), que coincide com o período de excreção do vírus nas secreções nasais (Figura 5). Amostras coletadas após este período podem ter um resultado falso-negativo. Em tecidos (pulmão e traqueia) de suínos afetados fixados em formalina, a presença de lesões histológicas características de infecção pelo IAV é visualizada, porém não são confirmatórias da presença do vírus. A confirmação da presença do vírus influenza em tecidos fixados é realizada quando o antígeno viral é detectado por meio da técnica de imuno-histoquímica (IHQ), e está associado às lesões histológicas. Para uma descrição detalhada das lesões encontradas em pulmões de suínos infectados pelo IAV, acesse o artigo (Schaefer et al., 2013). Para o diagnóstico virológico, as técnicas moleculares que detectam o RNA viral, como RT-PCR e RT-qPCR são as mais sensíveis e específicas, permitindo a detecção de ácido nucleico viral mesmo em amostras com baixa carga viral ou contendo vírus não viável (Zhang et al., 2014). Para uma caracterização mais completa das amostras do vírus influenza, para estudar a diversidade genética viral e como os vírus influenza evoluem em suínos, ferramentas de bioinformática

são utilizadas na análise de sequências gênicas geradas por sequenciamento de DNA (Figura 6).

Quando o objetivo do diagnóstico for a detecção de anticorpos, amostras biológicas (preferencialmente soro sanguíneo) devem ser coletadas entre 10 e 14 dias dpi (Figura 5, Tabela 2). O uso de testes sorológicos para a influenza possui valor diagnóstico limitado, uma vez que a doença está amplamente disseminada em rebanhos suínos. Além disto, a utilização de vacinas contra o IAV em muitos rebanhos dificulta a interpretação dos resultados sorológicos, uma vez que os mesmos não diferenciam anticorpos induzidos pela vacinação de anticorpos produzidos após infecção natural (Janke, 2014).

Quando as amostras biológicas são colhidas *ante mortem*, as amostras de escolha são a secreção nasal, fluido oral e soro. Em colheitas realizadas *post mortem*, o pulmão é o tecido de eleição, mas o lavado brônquico e suabe traqueal também podem ser utilizados. As amostras para o diagnóstico virológico devem ser armazenadas a 4°C, até o envio ao laboratório, e depois devem ser mantidas a -80°C. As amostras para o diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico devem ser acondicionadas em formalina tamponada a 10% e mantidas em temperatura ambiente (23°C). Para a detecção de anticorpos são utilizadas amostras de soro, que devem ser armazenadas a 4°C até o envio ao laboratório e depois mantidas a -20°C (Culhane; Detmer, 2014) (Tabela 2).

Para mais informações sobre como proceder para a colheita de amostras clínicas de suínos para o diagnóstico de influenza, acesse o endereço: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/997393?locale=en>.

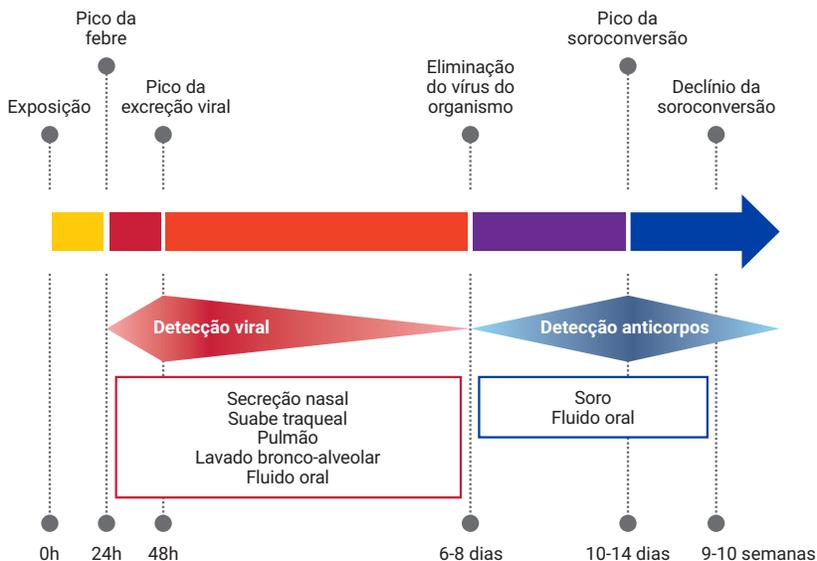
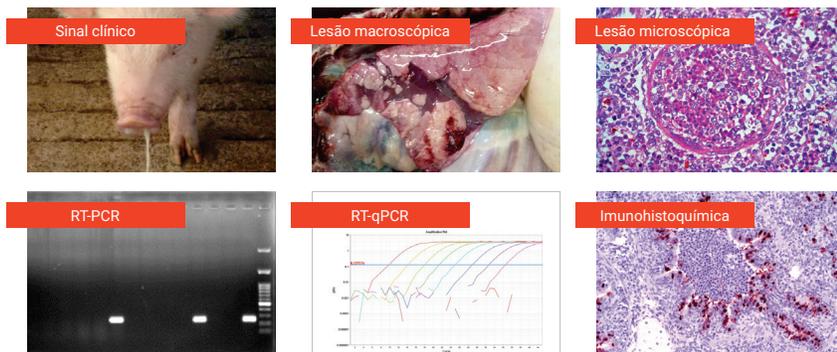


Ilustração: Marina Schmitt

Figura 5. Evolução da infecção pelo vírus influenza A em suínos e amostras clínicas recomendadas para o diagnóstico.



Fotos: Maicom Ferreira, Marcos A.Z. Morés e Danielle Gava

Figura 6. Sinais clínicos, lesões macroscópicas e histológicas observadas e principais testes utilizados para o diagnóstico do vírus influenza A em suínos.

Tabela 1. Pontos-chave para o sucesso do diagnóstico de influenza A em suínos.

Etapa	Orientações
Seleção do suíno	1. Escolher um suíno com febre, na fase aguda da doença
	2. Evitar suínos refugos, medicados ou que morreram espontaneamente
Colheita da amostra	1. Secreção nasal: colheita profunda da cavidade nasal com o uso de suabe sintético
	2. Contenção correta do suíno para retirada de sangue
	3. Aguardar a retração do coágulo para obtenção do soro
	4. Posição correta da corda de algodão na baía para obtenção de fluido oral
	5. Amostras de pulmão com lesão, colhidas de suínos mortos recentemente
Acondicionamento e envio das amostras ao laboratório	1. Amostras identificadas
	2. Amostras refrigeradas para o exame virológico
	3. Amostras em formol a 10% para exame histopatológico e imuno-histoquímico
	4. Embalagens que evitem vazamento ou compressão dos tecidos

Fonte: Adaptado de Schaefer et al., 2013.

Tabela 2. Amostras clínicas e técnicas utilizadas no diagnóstico da influenza A em suínos.

Amostra	Quantidade	Acondicionamento	Laboratório	Teste diagnóstico	Deteção
Pulmão	5 cm x 5 cm	Refrigerado	Virologia	•RT-PCR •RT-qPCR •Isolamento viral	Vírus
	2 cm x 2 cm	Fixado em formol 10%	Histopatologia	•Coloração H&E •IHQ	Lesão/ Antígeno
Secreção nasal	Suabes sintéticos de dracon ou rayon	Refrigerado	Virologia	•RT-PCR •RT-qPCR •Isolamento viral	Vírus
Sangue/soro	5 mL	Refrigerado/ Congelado	Virologia	•Inibição da hemaglutinação •ELISA	Anticorpo
Fluido oral	5 mL - 10 mL	Refrigerado/ Congelado	Virologia	•RT-PCR •RT-qPCR •Isolamento viral •ELISA	Vírus/ Anticorpo

Controle da influenza em suínos

Para o controle da doença é importante salientar que o principal meio de introdução dos IAVs em rebanhos suínos é através da movimentação animal, pelo contato direto suíno-suíno por exposição a secreções nasofaríngeas contendo vírus. Na maioria dos casos, o vírus desaparece em rebanhos de terminação, especialmente naqueles rebanhos que utilizam o sistema “todos dentro/todos fora”, porém o vírus pode ser reintroduzido em um período posterior. Em sistemas de produção com ciclo completo, o vírus persiste por longos períodos devido à constante disponibilidade de leitões suscetíveis (Van Reeth et al., 2019).

Medidas de controle recomendadas para a prevenção da introdução e transmissão do IAV em rebanhos suínos têm como foco principal a aplicação de procedimentos sanitários básicos de biossegurança de rebanhos, como por exemplo:

- Observar as boas práticas de produção, como boa higiene, ventilação das instalações, limpeza e desinfecção das instalações entre lotes;
- Implementar o vazio sanitário entre lotes;
- Monitorar os animais novos que entram no rebanho, especialmente as fêmeas de reposição;
- Evitar mistura de lotes de leitões de diversas origens;
- Evitar transportar os suínos durante a fase aguda da infecção;
- Evitar o contato dos suínos com outras espécies animais, instalar cercas de proteção no perímetro das granjas e telas anti-pássaros;
- Evitar contato de pessoas gripadas (com febre) com suínos; e
- Vacinar anualmente contra o vírus influenza todas as pessoas que entram em contato com os suínos (veterinários, suinocultores, motoristas que transportam os animais, etc.).

Vários estudos realizados nos últimos anos avaliaram as práticas de manejo utilizadas em rebanhos suínos e sua associação com ocorrência ou não da influenza. White et al. (2017) testaram estratégias para reduzir a incidência da influenza em leitões, e consideraram como medidas efetivas para reduzir a prevalência da influenza no rebanho, a vacinação massal, a separação de leitoas, a vacinação de leitoas e um intervalo mínimo de seis meses entre as introduções de leitoas no rebanho. Os autores também enfatizam a importância de medidas preventivas contra a influenza, uma vez que a eliminação da influenza se torna difícil quando o vírus se estabelece de forma endêmica no rebanho.

O efeito das práticas de biossegurança na soroprevalência de IAV em 21 rebanhos reprodutores brasileiros foi avaliado por Silva et al. (2019), os quais demonstraram que 64% (261/404) das matrizes avaliadas apresentavam anticorpos contra o IAV para pelo menos um dos subtipos virais circulantes no país (H1N1, H1N2 e H3N2). Após avaliar diversas variáveis, foi sugerido que prevenir o contato entre suínos e outras espécies (tela anti-pássaro e cerca no perímetro da granja), além do uso de uma área de adaptação para leitoas antes de serem introduzidas no rebanho podem ser estratégias para controlar a entrada do vírus em rebanhos reprodutores. Por sua vez, Chamba Pardo et al. (2018) avaliaram fatores de risco para introdução do IAV em 83 granjas produtoras de leitões nos Estados Unidos, por um período de seis anos, e concluíram que, dos fatores analisados, somente a vacinação de fêmeas e introdução no rebanho de leitoas negativas para IAV foram considerados fatores importantes para a redução da infecção em leitões ao desmame.

O transporte de suínos por longas distâncias foi implicado como responsável pela disseminação dos IAVs de origem humana na população de suínos da América do Norte (Nelson et al., 2011). Este trabalho sugere que a mudança na estrutura da indústria suína com adoção de sistemas de produção em vários sítios, com grande movimentação de suínos, utilização de galpões de grandes dimensões, com aumento da densidade de animais pode estar facilitando a disseminação de patógenos suínos, incluindo o vírus influenza.

O controle da influenza com o uso de vacinas

Muitos países produtores de suínos utilizam a vacinação contra o vírus influenza como uma das principais medidas profiláticas. As vacinas disponíveis comercialmente contêm vírus inativado (WIV, *whole inactivated virus*) com adição de adjuvante oleoso e são administradas pela via intramuscular. Estas vacinas induzem um alto nível de anticorpos no soro contra a proteína HA, porém a resposta imune de mucosa é limitada. Outro aspecto importante a ser considerado, é que essas vacinas funcionam bem desde que sejam representativas dos vírus que circulam no rebanho no momento da vacinação, ou seja, a proteção induzida por vacinas WIV depende da similaridade existente entre o vírus vacinal e o vírus que circula no rebanho (ou vírus de desafio). Em geral, quando o antígeno vacinal e o vírus de desafio são antigenicamente relacionados (ou homólogos), a vacina protege contra o desenvolvimento dos sinais clínicos, reduzindo a excreção viral. Porém, quando ocorre infecção por vírus antigenicamente diferentes (ou heterólogos) do vírus vacinal, essas vacinas são menos efetivas e pode haver intensificação dos sinais clínicos da doença, induzindo o fenômeno conhecido como doença respiratória exacerbada associada à vacinação (VAERD; *vaccine-associated enhanced respiratory disease*) (Gauger et al., 2011; Rajão et al., 2014), que é caracterizada por pneumonia broncointersticial severa com bronquiolite necrótica e hiperplasia (Rajao et al.; 2014). Atualmente, a co-circulação em suínos de vírus influenza antigenicamente distintos tem complicado o controle da doença com o uso de vacinas tradicionais. Uma alternativa que tem sido utilizada são as vacinas autógenas, as quais utilizam vírus inativado, mas apresentam como diferencial serem produzidas a partir de uma amostra de vírus isolada de suínos do próprio rebanho onde a vacina será empregada. Em geral, as vacinas contendo vírus inativado são utilizadas em matrizes na fase de pré-cobertura, de forma a induzir a presença de imunidade passiva em leitões durante o início da fase de creche (Rajao et al., 2014).

Nos últimos anos, como alternativa ao uso de vacinas contendo vírus inativado, têm sido avaliadas experimentalmente vacinas contendo vírus vivo atenuado (LAIV). As vacinas LAIV apresentam uma imunidade cruzada mais ampla (Sandbulte et al., 2014; Vincent et al., 2012). Todavia, a presença de anticorpos maternos no momento da vacinação pode interferir negativamente

na eficácia da vacina (Kitikoon et al., 2006). Além disto, o sucesso da vacinação para o IAV também pode ser prejudicado pela rápida evolução viral e aumento da diversidade do vírus, trazendo desafios para o desenvolvimento de vacinas que induzam proteção cruzada para todas as variantes virais circulantes (Rajão et al., 2014).

A vacinação de suínos contra o IAV é rotineiramente realizada pelos produtores de suínos na América do Norte e Europa (Ma; Richt, 2010; Rajão et al., 2013). Entretanto, a vacinação não é uma prática de rotina nas granjas brasileiras. No Brasil, está disponível comercialmente desde junho de 2014 uma vacina contra o vírus influenza H1N1pdm09. E, desde 2017, vacinas autógenas também têm sido comercializadas.

Na ocorrência de doença clínica mais severa em rebanhos suínos e na indisponibilidade de vacinas contra a influenza, o tratamento medicamentoso pode ser instituído com o uso de antitérmicos, expectorantes e antimicrobianos para combater infecções bacterianas secundárias (Schaefer et al., 2013; Torremorell et al., 2009, 2012; White et al., 2017).

Considerações finais

As granjas produtoras de leitões têm um papel importante na disseminação dos IAVs, uma vez que os leitões lactentes mantêm, diversificam e transmitem o vírus influenza (no desmame) para outras granjas. Além disso, as práticas de manejo muitas vezes utilizadas, como a mistura de leitões de várias origens, amplificam o potencial de disseminação viral. Desta forma, diferentes estratégias são utilizadas em granjas para controlar a influenza, como o aumento do intervalo para introdução de leitoas de reposição no rebanho, a manutenção de uma área de adaptação para leitoas antes de sua introdução no rebanho, vacinação de matrizes e reforço das medidas de biossegurança das granjas.

No Brasil, o controle da influenza em suínos ainda é desafiador, uma vez que a circulação em suínos de vírus H1N1, H1N2 e H3N2, geneticamente e antigenicamente distintos, dificultam o desenvolvimento de vacinas eficazes que induzam proteção cruzada contra os diferentes subtipos virais. A grande diversidade genética encontrada em suínos, circulação de novas variantes,

além da possibilidade de transmissão viral bidirecional (suíno-humano e humano-suíno), demonstram a importância do monitoramento e da vigilância da circulação dos vírus influenza em rebanhos suínos, tanto para a saúde humana como para a saúde animal, especialmente em países com alta produção de suínos como o Brasil. Desta forma, a seleção de amostras brasileiras representativas, com base em estudos de diversidade genética e antigênica, será crucial para o desenvolvimento de vacinas eficazes para controlar a doença a campo.

Referências

- BANGARU, S.; NIEUSMA, T.; KOSE, N. Recognition of influenza H3N2 variant virus by human neutralizing antibodies. *JCI Insight*, v. 1, n. 10, 2016.
- BIONDO, N.; SCHAEFER, R.; GAVA, D.; CANTAO, M. E.; SILVEIRA, S.; MORES, M. A. Z.; ZANELLA, J. R. C.; BARCELLOS, D. E. S. N. Genomic analysis of influenza A virus from captive wild boars in Brazil reveals a human-like H1N2 influenza virus. ***Veterinary Microbiology***, v. 168, p. 34–40, 2014.
- BRENTANO, L.; ZANELLA, J. R. C.; MORES, N.; PIFFER, I. A. **Levantamento soroepidemiológico para coronavírus respiratório e da gastroenterite transmissível e dos vírus de influenza H3N2 e H1N1 em rebanhos suínos no Brasil**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 2002. 6 p. (EMBRAPA-CNPSA. Comunicado Técnico, 306).
- BROWN, I. H. The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. ***Veterinary Microbiology***, v. 74, n. 1-2, p. 29-46. 2000.
- CHAE, C. Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae*. ***Veterinary Journal***, v. 212, p. 1-6. 2016.
- CHAMBA PARDO, F. O.; ALBA-CASALS, A.; NEREM, J.; MORRISON, R. B.; PUIG, P.; TORREMORELL, M. Influenza Herd-Level Prevalence and Seasonality in Breed-to-Wean Pig Farms in the Midwestern United States. ***Frontiers in Veterinary Science***, v. 4, art. 167, 2017.
- CHAMBA PARDO, F. O.; SCHELKOPF, A.; ALLERSON, M.; MORRISON, R.; CULHANE, M.; PEREZ, A.; TORREMORELL, M. Breed-to-wean farm factors associated with influenza A virus infection in piglets at weaning. ***Preventive Veterinary Medicine***, v. 161, p. 33-40. 2018.
- CHOWELL, G.; ECHEVARRÍA-ZUNO, S.; VIBOUD, C.; SIMONSEN, L.; TAMERIOUS, J.; MILLER, M. A.; BORJA-ABURTO, V. H. Characterizing the epidemiology of the 2009 influenza A/H1N1 pandemic in Mexico. ***Plos Medicine***, v. 8, n. 5, p. e1000436, 2011.
- CULHANE, M. R.; DETMER, S. E. Sample types, collection, and transport for influenza A viruses of swine. ***Methods in Molecular Biology***, v. 1161, p. 259-263, 2014.

- CUNHA R. G.; VINHA V. R.; PASSOS W. D. Isolation of a strain of Myxovirus influenzae-A suis from swine slaughtered in Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 38, p. 13-17, 1978.
- DAWOOD, F. S.; JAIN, S.; FINELLI, L. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. **The New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 25, p. 2605-2615, 2009.
- DAWOOD, F. S.; IULIANO, A. D.; REED, C. Estimated global mortality associated with the first 12 months of 2009 pandemic influenza A H1N1 virus circulation: a modelling study. **The Lancet Infectious Disease**, v. 12, n. 9, p. 687-695, Sept. 2012.
- DE JONG, J. C.; SMITH, D. J.; LAPEDES, A. S. Antigenic and genetic evolution of swine influenza A (H3N2) viruses in Europe. **Journal of Virology**, v. 81, n. 8, p. 4315-4322, 2007.
- DE JONG, J. C.; VAN NIEUWSTADT, A. P.; KIMMAN, T. G. Antigenic drift in swine influenza H3 haemagglutinins with implications for vaccination policy. **Vaccine**, v. 17, n. 11-12, p. 1321-1328, 1999.
- DIAZ, A.; PEREZ, A.; SREEVATSAN, S. Association between Influenza A Virus Infection and Pigs Subpopulations in Endemically Infected Breeding Herds. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0129213, 2015.
- DUCATEZ M. F.; HAUSE, B.; STIGGER-ROSSER, E.; DARNELL, D.; CORZO, C. Multiple reassortment between pandemic (H1N1) 2009 and endemic Influenza viruses in pigs, United States. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, p. 1624-1629, 2011.
- ER, C.; SKJERVE, E.; BRUN, E.; FRAMSTAD, T.; LIUM, B. Production impact of influenza A(H1N1)pdm09 virus infection on fattening pigs in Norway. **Journal of Animal Science**. v. 94, p. 751-759, 2016.
- FORGIE, S. E.; KEENLISIDE, J.; WILKINSON, C.; WEBBY, R. Swine outbreak of pandemic influenza A virus on a Canadian research farm supports human-to-swine transmission. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, p. 10-18, 2011.
- GARTEN, R. J. et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. **Science**, v. 325, n. 5937, p. 197-201, 2009.
- GAUGER, P. C.; VINCENT, A. L.; LOVING, C. L.; LAGER, K. M.; JANKE, B. H.; KEHRLI JR, M. E.; ROTH, J. A. Enhanced pneumonia and disease in pigs vaccinated with an inactivated human-like (δ-cluster) H1N2 vaccine and challenged with pandemic 2009 H1N1 influenza virus. **Vaccine**, v. 29, n.15, p. 2712-2719, 2011.
- GAUGER, P. C.; ZHANG, J.; VINCENT, A. L. Flu Virus Continues to Evolve in Swine. **National Hog Farmer**. Disponível em: <http://nationalhogfarmer.com/health/flu-virus-continues-evolve-swine>. Acesso em: 28 jun. 2012.
- GILLESPIE, T. G. Diagnosing endemic swine influenza virus in nursery pigs using cross-sectional serological profiling. **The Journal of Swine Health and Production**, v. 7, n. 2, p. 81-83 Feb-March. 1999.
- GRAY, G. C.; MCCARTHY, T.; CAPUANO, A. W.; SETTERQUIST, S. F.; OLSEN, C. W.; ALAVANJA, M. C.; LYNCH, C. F. Swine workers and swine influenza virus infections. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 12, p. 1871, 2007.

HANSEN, M. S.; PORS, S. E.; JENSEN, H. E.; BILLE-HANSEN, V.; BISGAARD, M.; FLACHS, E. M.; NIELSEN, O. L. An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. **Journal of Comparative Pathology**, v. 143, p. 120-131, 2010.

HINSHAW, V. S.; BEA JR W. J.; WEBSTER, R. G.; EASTERDAY, B. C. The prevalence of influenza viruses in swine and the antigenic and genetic relatedness of influenza viruses from man and swine. **Virology**, v. 84, n. 1, p. 51-62, 1978.

HOFSHAGEN, M. GJERSET, B.; ER, C.; TARPAL, A. Pandemic influenza A(H1N1)v: human to pig transmission in Norway. **Euro Surveill**, v. 14, p. 1-3, 2009.

HOLYOAKE, P. K.; KIRKLAND, P. D.; DAVIS, R. J.; ARZEY, K. E.; WATSON, J. The first identified case of pandemic H1N1 influenza in pigs in Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 89, p. 427-423, 2011.

HOWDEN, K. J.; BROCKHOFF, E. J.; CAYA, F. D.; MCLEOD, L. J.; LAVOIE, M.; ING, J. D. An investigation into human pandemic influenza virus (H1N1) 2009 on an Alberta swine farm. **Canadian Veterinarian Journal**, v. 50, p. 1153-1161, 2009.

JANKE, B. H. Influenza A virus infections in swine: pathogenesis and diagnosis. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 2, p. 410-426, 2014.

JHUNG, M. A.; EPPERSON, S.; BIGGERSTAFF, M. Outbreak of variant influenza A (H3N2) virus in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 57, n. 12, p. 1703-1712, 2013.

KHAN, S. U.; ATANASOVA, K. R.; KRUEGER, W. S.; RAMIREZ, A.; GRAY, G. C. Epidemiology, geographical distribution, and economic consequences of swine zoonoses: a narrative review. **Emerging Microbes & Infections**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2013.

KITIKOON, P.; NILUBOL, D.; ERICKSON, B. J.; JANKE, B.H.; HOOVER, T. C.; SORNSEN, S. A.; THACKER, E. L. The immune response and maternal antibody interference to a heterologous H1N1 swine influenza virus infection following vaccination. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 112, n. 3-4, p. 117-128, 2006.

KYRIAKIS, C. S.; BROWN, I. H.; FONI, E.; KUNTZ-SIMON, G.; MALDONADO, J.; MADEC, F.; ESSEN, S. C.; CHIAPPONI, C.; VAN REETH, K. Virological surveillance and preliminary antigenic characterization of influenza viruses in pigs in five European countries from 2006 to 2008. **Zoonoses and Public Health**, v. 58, n. 2, p. 93-101, 2011.

LANDOLT, G. A.; OLSEN, C. W. Up to new tricks-a review of cross-species transmission of influenza A viruses. **Animal Health Research Reviews**, v. 8, n. 1, p. 1-21, 2007.

LEMEY, P.; TAN, Y.; VINCENT, A.; LAM, T. T. Spatial dynamics of human-origin H1 influenza A virus in North American swine. **Plos Pathogens**, v.7, n. 6, p. e1002077. 2011.

LEWIS, N. S.; RUSSELL, C. A.; LANGAT, P. The global antigenic diversity of swine influenza A viruses. **ELife**, v. 5, p. e12217, 2016.

LIU, Q.; MA, J.; LIU, H.; QI, W.; ANDERSON, J.; HENRY, S. C.; HESSE, R. A.; RICHT, J. A.; MA, W. Emergence of novel reassortant H3N2 swine influenza viruses with the 2009 pandemic H1N1 genes in the United States. **Archives of Virology**, v. 157, p. 555-562, 2012.

- LOEFFEN, W. L. HUNNEMAN, W. A.; QUAK, J.; VERHEIJDEN, J. H.; STEGEMAN, J. A. Population dynamics of swine influenza virus in farrow-to-finish and specialised finishing herds in the Netherlands. **Veterinary Microbiology**, v. 137, n. 1-2, p. 45-50, 2009.
- MA, W.; RICHT, J. A. Swine influenza vaccines: current status and future perspectives. **Animal Health Research Reviews**, v.11, n.1, p. 81-96, 2010.
- MENA, I.; NELSON, M. I.; QUEZADA, F. Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico. **ELife**, v. 5, 2016.
- MORENO, A.; DI TRANI, L.; ALBORALI, L. First Pandemic H1N1 Outbreak from a Pig Farm in Italy. **The Open Virology Journal**, v. 4, p. 52-56, 2010.
- MORENO, A.; DI TRANI, L.; FACCINI, S.; VACCARI, G.; NIGRELLI, D. Novel H1N2 swine influenza reassortant strain in pigs derived from the pandemic H1N1/2009 virus. **Veterinary Microbiology**, v. 149, p. 472-477, 2011.
- NEIRA, V.; RABINOWITZ, P.; RENDAH, A.; PACCHA, B.; GIBBS, S. G.; TORREMORELL, M. Characterization of Viral Load, Viability and Persistence of Influenza A Virus in Air and on Surfaces of Swine Production Facilities. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0146616, 2016.
- NELSON, M.; CULHANE, M. R.; ROVIRA, A.; TORREMORELL, M.; GUERRERO, P.; NORAMBUENA, J. Novel human-like influenza A viruses circulate in swine in Mexico and Chile. **Plos Currents Outbreaks**, v. 7, 2015a.
- NELSON, M.; CULHANE, M. R.; ROVIRA, A.; TORREMORELL, M.; GUERRERO, P.; NORAMBUENA, J. Continual reintroduction of human pandemic H1N1 influenza A viruses into swine in the United States, 2009 to 2014. **Journal of Virology**, v. 89, n. 12, p. 6218-6226, 2015b.
- NELSON, M. I.; SCHAEFER, R.; GAVA, D.; CANTAO, M. E.; ZANELLA, J. R. C. Influenza A viruses of human origin in swine, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 8, p. 1339 - 1347, 2015c.
- NELSON, M. I.; VINCENT, A. L. Reverse zoonosis of influenza to swine: new perspectives on the human-animal interface. **Trends in Microbiology**, v. 23, n. 3, 2015.
- NEUMANN, G.; KAWAOKA, Y. Host range restriction and pathogenicity in the context of influenza pandemic. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 6, p. 881, 2006.
- NJABO, K. Y.; FULLER, T. L.; CHASAR, A. Pandemic A/H1N1/2009 influenza virus in swine, Cameroon, 2010. **Veterinary Microbiology**, v. 156, p. 189–92, 2012.
- OLSEN, C. W. The emergence of novel swine influenza viruses in North America. **Virus Research**, v. 85, n. 2, p. 199-210, 2002.
- OLSEN, C. W.; BRAMMER, L.; EASTERDAY, B. C. Serologic evidence of H1 swine influenza virus infection in swine farm residents and employees. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, p. 814-815, 2002.
- OLSEN, C. W.; CAREY, S.; HINSHAW, L.; KARASIN, A. I. Virologic and serologic surveillance for human, swine and avian influenza virus infections among pigs in the north-central United States. **Archives of Virology**, v. 145, n. 7, p. 1399-419, 2000.

OPRIESSNIG, T; GIMÉNEZ-LIROLA, L.G; HALBUR, P.G. Polymicrobial respiratory diseases in pigs. **Animal Health Research Reviews**, v. 12, n. 2, p. 133-48, 2011.

PASMA, T.; JOSEPH, T. Pandemic (H1N1) 2009 Infection in Swine Herds, Manitoba, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16 p. 706-708, 2010.

PEREDA, A.; CAPPUCCIO J.; QUIROGA M. A. Pandemic (H1N1) 2009 outbreak on pig farm, Argentina. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, p. 304-307, 2010.

QIU, Y.; DE HERT, K; VAN REETH, K. Cross-protection against European swine influenza viruses in the context of infection immunity against the 2009 pandemic H1N1 virus: studies in the pig model of influenza. **Veterinary Research**, v. 46, n. 1, p. 105, 2015.

RAJÃO, D. S.; COSTA, A. T.; BRASIL, S. S.; DEL PUERTO, H. L. Genetic characterization of influenza virus circulating in Brazilian pigs during 2009 and 2010 reveals a high prevalence of the pandemic H1N1 subtype. **Influenza and other respiratory viruses**, v. 7, n. 5, p. 783-790, 2013.

RAJÃO, D. S.; ALVES, F.; DEL PUERTO, H. L.; BRAZ, G. F.; OLIVEIRA, F. G.; ZANELLA, J. R. C.; SCHAEFER, R.; REIS, J. K. P. dos; GUEDES, R. M. C.; LOBATO, Z. I. P.; LEITE, R. C. Serological evidence of swine influenza in Brazil. **Influenza and Other Respiratory Viruses**, v. 7, n. 2, p. 109-112, 2013.

RAJÃO, D. S.; COUTO, D. H.; GASPARINI, M. R. Diagnosis and clinic-pathological findings of influenza virus infection in Brazilian pigs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 30-36, 2013.

RAJÃO, D. S.; ANDERSON, T. K.; GAUGER, P. C.; VINCENT, A. L. Pathogenesis and vaccination of influenza A virus in swine. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 385, p. 307-326, 2014.

RAJÃO, D. S.; PÉREZ, D. R. Universal vaccines and vaccine platforms to protect against influenza viruses in humans and agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 123, p. 1-21, 2018.

SANDBULTE, M. R.; PLATT, R.; ROTH, J. A.; HENNINGSON, J. N.; GIBSON, K. A.; RAJÃO, D. S.; LOVING, C. L.; VINCENT, A. L. Divergent immune responses and disease outcomes in piglets immunized with inactivated and attenuated H3N2 swine influenza vaccines in the presence of maternally-derived antibodies. **Virology**, v. 464-465, n.1, p.45-54, 2014.

SCHAEFER, R.; TREVISOL, I. M.; PALUDO, E. **Avaliação da presença do vírus influenza em suínos no sul do Brasil**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2008. 13 p. (Embrapa Suínos e Aves. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 10).

SCHAEFER, R.; ZANELLA, J. R. C.; BRENTANO, L.; VINCENT, A. L.; RITTERBUSCH, G. A.; CARON, L.; MORES, N. Isolation and characterization of a pandemic H1N1 influenza virus in pigs in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 761-767, 2011.

SCHAEFER, R.; RECH, R. R.; SILVA, M. C.; GAVA, D.; ZANELLA, J. R. C. Orientações para o diagnóstico de influenza em suínos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 61-73, 2013.

SCHAEFER, R.; RECH, R. R.; GAVA, D.; CANTAO, M. E.; SILVA, M. C. da; SILVEIRA, S.; ZANELLA, J. R. C. A human-like H1N2 influenza virus detected during an outbreak of acute respiratory disease in swine in Brazil. **Archives of Virology**, v. 160, n. 1, p. 29-38, 2015.

- SCHMIDT, C.; CIBULSKI S. P.; ANDRADE C. P.; TEIXEIRA T. F. Swine influenza virus and association with the porcine respiratory disease complex in pig farms in southern Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 63, p. 234-240, 2016.
- SHAW, M.L. & PALESE, P. Orthomyxoviridae: the viruses and their replication. In: KNIFE, D. M.; HOWLEY, P. M. (Ed.). **Fields virology**. 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, c2013. p. 1151-1185.
- SHORT, K. R.; RICHARD, M.; VERHAGEN, J. H. One health, multiple challenges: The inter-species transmission of influenza A virus. **One Health**. 1: 1–13, 2015.
- SILVA, A. P. S. P.; COSTA, E. de F.; SILVA G. S.; SOUZA, C. K.; SCHAEFER, R.; VAZ JÚNIOR, I. da S.; CORBELLINI, L. G. Biosecurity practices associated with influenza A virus seroprevalence in sows from southern Brazilian breeding herds. **Preventive Veterinary Medicine**, 166: 1-7. 2019.
- SMITH, G. J.; VIJAYKRISHNA. D.; BAHL. J. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. **Nature**, v. 459, n. 7250, p. 1122, 2009.
- TEREBUH, P.; OLSEN, C. W.; WRIGHT, J. Transmission of influenza A viruses between pigs and people, Iowa, 2002–2004. **Influenza and other respiratory viruses**, v. 4, n. 6, p. 387-396, 2010.
- TORREMORELL, M. JUAREZ, A.; CHAVEZ, E.; YESCAS, J.; DOPORTO, J. M.; GRAMER, M. Procedures to eliminate H3N2 swine influenza virus from a pig herd. **Veterinary Record**. v. 165, p. 74-77, 2009.
- TORREMORELL, M.; ALLERSON, M.; CORZO, C.; DIAZ, A.; GRAMER, M. Transmission of influenza A virus in pigs. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 59, n. Suppl. 1, p. 68-84, 2012.
- VALLS, G. E. M.; CASAL, J.; LUQUE, I. D. Flu productive impact. Available in: https://www.pig333.com/articles/flu-productive-impact_10844/.
- VAN REETH, K.; VINCENT, A. L. Influenza Viruses. In: ZIMMERMAN, J.; KARRIKER, L. A.; RAMIREZ, A.; SCHWARTZ, K. J.; STEVENSON, G. W.; ZHANG, J. (Ed.) **Diseases of Swine**. 11th. Ames: John Wiley & Sons, c2019. p. 576-593.
- VAN REETH, K. Avian and swine influenza viruses: our current understanding of the zoonotic risk. **Veterinary Research**, v. 38, n. 2, p. 243-260. 2007.
- VINCENT, A. L.; MA, W.; LAGER, K. M.; GRAMER, M. R.; RICHT, J. A.; JANKE, B. H. Characterization of a newly emerged genetic cluster of H1N1 and H1N2 swine influenza virus in the United States. **Virus Genes**, v. 39, p. 176-185, 2009.
- VINCENT, A.; ZANELLA, J. R. C.; AWADA, L.; BROWN, I.; CHEN, H.; CLAES, F.; DAUPHIN, G.; DONIS, G.; CULHANE, M.; HAMILTON, K.; LEWIS, N.; MUMFORD, E.; NGUYEN, T.; PARCHARIYANON, S.; PASICK, J.; PAVADE, G.; PEREDA, A.; PEIRIS, M.; SAITO, T.; SWENSON, S.; VAN REETH, K.; WEBBY, R.; WONG, F. Review of influenza A virus in swine worldwide: a call for increased surveillance and research. **Zoonoses and Public Health**, v. 61, n. 1. p. 4-17, 2014.
- VINCENT, A. L.; LAGER, K. M.; ANDERSON, T. K. A brief introduction to influenza A virus in swine. **Methods in Molecular Biology**, v. 1161, p. 243–258, 2014.

VINCENT, A. L.; MA, W.; LAGER, K. M.; RICHT, J. A.; JANKE, B. H.; SANDBULTE, M. R.; GAUGER, P. C.; LOVING, C. L.; WEBBY, R. J.; GARCÍA-SASTRE, A. Live attenuated influenza vaccine provides superior protection from heterologous infection in pigs with maternal antibodies without inducing vaccine-associated enhanced respiratory disease. **Journal of Virology**, v. 86, n. 19, p. 10597-10605, 2012.

WATANABE, T. T. N.; ALMEIDA, L. L. de; WOUTERS, F.; WOUTERS, A. T. B.; ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D. Histopathological and immunohistochemical findings of swine with spontaneous influenza A infection in Brazil, 2009-2010. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1148-1154, 2012.

WEBBY, R.; WEBSTER, R. Emergence of influenza A viruses. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 356, n. 1416, p. 1817-1828, 2001.

WHITE, L.A. TORREMORELL, M.; CRAFT, M. E. Influenza A virus in swine breeding herds: combination of vaccination and biosecurity practices can reduce likelihood of endemic piglet reservoir. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 138, p. 55-69, 2017.

YOON K. J. Genetic assessment of VDL SIV isolate pool for evidence of the swine flu strain reported to be infecting people and development of a high-throughput differential test for the novel strain. **National Pork Board**, Des Moines, 8 June 2011. Disponível em: <https://www.pork.org/research/genetic-assessment-of-vdl-siv-isolate-pool-for-evidence-of-the-swine-flu-strain-reported-to-be-infecting-people-and-development-of-a-high-throughput-differential-test-for-the-novel-strain/>. Acesso em: 20 nov. 2019.

ZANELLA, J. R. C.; SCHAEFER, R.; GAVA, D.; HAACH, V.; CANTAO, M. E.; COLDEBELLA, A. Influenza A virus infection in Brazilian swine herds following the introduction of pandemic 2009 H1N1. **Veterinary Microbiology**, v. 180, n. 1-2, p. 118-122, 2015.

ZANELLA, J. R. C.; SCHAEFER, R.; SCHIOCHET, M. F.; SILVEIRA, S.; CARON, L.; PIOVEZAN, U.; JULIANO, R. S. Current and retrospective serology study of influenza a viruses antibodies in Brazilian pig populations. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EMERGING AND RE-EMERGING PIG DISEASES, 6., 2011, Barcelona. **Proceedings**. Barcelona: CREsA-UAB-IRTA, 2011. p. 261.

ZHANG, J.; HARMON, K. M. RNA extraction from swine samples and detection of influenza A virus in swine by real-time RT-PCR. **Methods in Molecular Biology**. v. 1161, p. 277-293, 2014.



Suínos e Aves

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL