

LEVANTAMENTO DE DADOS DA EFETIVIDADE DA IMUNIDADE VACINAL PARA INFLUENZA SUÍNA, *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* E *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* EM DUAS GRANJAS DISTINTAS

BORGES, Isabela Schroeder¹
GUERIOS, Euler Marcio Ayres²

RESUMO

Foram realizados levantamentos sanitários de suínos de duas granjas distintas, onde buscou-se identificar os percentuais de imunidade vacinal em cada modalidade separadamente, com o objetivo de delinear as possibilidades da ocorrência dos agentes Influenza suína, *Mycoplasma hyopneumoniae* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Os diagnósticos confirmatórios foram feitos através do teste ELISA, as amostras de sangue coletadas das diferentes fases, sendo elas leitoas, porcas de ciclos diferentes, creche, terminação e rufiões, eram acondicionadas em caixas térmicas e enviadas ao laboratório biotecnológico, com o propósito de fazer o estudo da presença dos anticorpos dos agentes citados acima que causam as doenças respiratórias com maior índice em cada fase dos suínos estudados.

PALAVRAS-CHAVE: Sangue, Agentes, ELISA, Laboratório

1. INTRODUÇÃO

As doenças respiratórias acabam gerando enormes prejuízos quando se trata da cadeia produtiva dos suínos nos países que possuem produção intensiva. Por conta das características dos novos sistemas de produção, o Brasil possui uma grande porcentagem de casos de doenças respiratórias, onde ocorre a mistura de suínos de origens diferentes dentro das granjas e também por esses animais serem criados confinados em altas densidades, fazendo com que além do estresse, facilite a disseminação de agentes e ocorra o agravamento dos problemas respiratórios (FRAILE *et al.*, 2010; OPRIESSNIG, GIMÉNEZ-LIROLA, HALBUR, 2011).

Na maioria das granjas, os agentes infecciosos respiratórios são enzoóticos, onde alguns dos agentes estão presentes na microbiota do trato respiratório; a doença possui uma ocorrência variável, por meio da presença de fatores de riscos de manejo e ambiental, podendo ser de menor ou maior grau, fazendo com que os animais sejam predispostos a contraírem às infecções (FRAILE *et al.*, 2010; OPRIESSNIG *et al.*, 2011).

As características que os agentes infecciosos possuem, associados aos fatores de risco citados acima, fazem com que os quadros clínicos respiratórios dos animais que estão na fase de crescimento e terminação, sejam provocados por meio da associação de dois ou mais microrganismos (HANSEN *et al.*, 2010; OPRIESSNING *et al.*, 2011).

¹ Acadêmico de Medicina Veterinária. Email: ischroederborges@gmail.com

² Médico Veterinário. E-mail: assiveteulermarcio@gmail.com

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 INFLUENZA SUÍNA

A influenza suína é altamente contagiosa e é uma doença viral aguda, onde acomete os suínos, outras espécies e também os humanos. No caso dos suínos, ela é causada pela Influenza A, e quando ocorre pela primeira vez em uma granja ela é identificada pelo seu aparecimento repentino, podendo acometer até 100% do número de animais de várias idades. Por razão dos suínos não serem expostos a esse vírus antes, essa doença ocorre de forma epidêmica (VAN REETH; BROWN; OLSEN, 2012).

A transmissão da doença é pelo contato direto de suínos portadores da doença pelas secreções nasais e é possível observar sinais clínicos como relutância para se levantar, anorexia, taquipneia, prostração e tosse depois de alguns dias (VAN REETH; BROWN; OLSEN, 2012). Um dos fatores que facilitam a disseminação desse vírus em lotes de suínos suscetíveis, é o contato entre os animais, onde é fortalecido por meio de situações estressantes, fatores ambientais e climáticos e práticas de manejo (BROW, 2000).

Em surtos típicos, ocorrem sinais clínicos como anemia, conjuntivite, febre, prostração, tosse, dispneia e secreção nasal seromucosa, ocorrendo assim, um comprometimento súbito nos suínos afetados (EASTERDAY; REETH, 1999). Já nos surtos atípicos, a sintomatologia é menor e a quantidade de animais afetados também. A infecção do vírus é exclusiva ao trato respiratório, onde a viremia é dificilmente detectada (BROWN *et al.*, 1993).

2.1.1 *Mycoplasma hyopneumoniae*

Em relação ao *Mycoplasma hyopneumoniae*, ele é um dos agentes primários principais quando se trata de pneumonias que acometem os suínos no mundo (THACKER, 2006; MAES *et al.*, 2008; HANSEN *et al.*, 2010), porém a sua participação em doenças respiratórias não é muito clara (PALZER *et al.*, 2008). O *Mhyr* possui grande importância em lesões nas pneumonias enzoóticas e doenças respiratórias no geral (HANSEN *et al.*, 2010; LIN *et al.*, 2006).

A infecção pela bactéria tem início na colonização do epitélio respiratório, ocorrendo uma perda na depuração mucociliar, resposta inflamatória, imunossupressão do hospedeiro e prepara os suínos a infecções secundárias com bactérias, como por exemplo a *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* e *Streptococcus suis* (LIU *et al.*, 2019). Por ser uma bactéria que possui uma forte persistência no trato respiratório do animal, acaba dificultando a realização da erradicação dentro das granjas comerciais (TAKEUTI; BARCELLOS, 2017).

Apesar de todos os suínos em qualquer fase serem susceptíveis a bactéria, as fases de recria e terminação costumam ser as mais predispostas a contraírem sinais clínicos (SIBILA *et al.*, 2009), pelo fato desses animais nessas duas fases em específico, possuírem uma baixa imunidade contra o *Mycoplasma hyopneumoniae* (CASSIANO, 2015). Os sinais clínicos, após ocorrer a contaminação, começam a aparecer depois de 13 dias, podendo variar de 6 a 27 dias (SØRENSEN *et al.*, 1997). O principal sinal clínico é a tosse crônica não produtiva, que ocorre com 10 a 16 dias, podendo ocorrer variação por conta das condições de campo (MAES *et al.*, 2008).

2.1.2 *Actinobacillus pleuropneumoniae* (app)

A bactéria *Actinobacillus pleuropneumoniae*, conhecida como APP, é um agente etiológico da pleuropneumonia suína e patógeno específico dos suínos (NIELSEN, 1988; GOTTSCHALK; BROES, 2019). É uma das principais pneumonias que possui origem bacteriana na suinocultura mundial e nacional (SANTOS; BARCELLOS; MORÉS, 2012; LEE *et al.*, 2015).

No Brasil, A pleuropneumonia suína foi diagnosticada no começo da década de 1980 (KLEIN *et al.*, 2003). É uma doença que está presente em algumas granjas brasileiras, principalmente, em terminações e granjas de ciclo completo, onde não realizam vazio sanitário (DUTRA *et al.*, 2000; KUCHIISHI *et al.*, 2007).

A transmissão ocorre por meio de exposições a secreções respiratórias e/ou aerossóis (VELTHUIS *et al.*, 2002). É possível que haja transmissão por meio de rotas indiretas, por conta da contaminação ambiental presente em sistemas comerciais de produção de suínos (DESROSIERS; MOORE, 1998; LOERA-MURO *et al.*, 2014). Os sinais clínicos apresentados na fase aguda são tosse, anorexia, dispneia e letargia; já na fase crônica caso o quadro evolua, será possível observar nas alterações macroscópicas abcessos pulmonares, pleurite e aderências (GOTTSCHALK; BROES, 2019).

2.1.3 Vacinas

O principal desafio das vacinas é a contínua evolução do vírus, o que exige atualizações frequentes das cepas vacinais, incluindo assim, os subtipos circulantes presentes no rebanho (CIACCI-ZANELLA *et al.*, 2011).

Segundo Lowe (2008), a vacina pode ser administrada durante a gestação para estimular a imunidade das reprodutoras e contribuir na proteção dos leitões, sendo mais vantajosa para as matrizes que já tiveram contato anterior com o vírus; os suínos jovens devem ser vacinados após a

diminuição de imunidade transmitida pela porca, uma vez que a imunidade passiva não é suficiente para proteger os leitões a partir da fase intermediária de creche. No cenário global, é possível concluir que as medidas de biossegurança devem ser a principal estratégia no controle da Influenza suína, enquanto o uso de vacinação apresenta particularidades específicas em cada país (CARON *et al.*, 2010).

De acordo com Pieters e Fano (2016), a inclusão de animais de reposição é uma prática muito comum dentro da suinocultura, mas pode gerar problemas sanitários significativos, tanto para os suínos de rebanho existentes, quanto para os animais recém-chegados, especialmente quando suínos negativos são introduzidos em granjas positivas para *Mycoplasma hyopneumoniae*.

O aumento na taxa de reposição de leitoas, mesmo vacinadas, eleva a incidência da doença clínica, desestabilizando o rebanho (NATHEUS *et al.*, 2013) e ampliando o número de variantes de *M. hyopneumoniae* presentes nas granjas (VRANCKX *et al.*, 2011). Pelo fato da renovação do plantel ser necessária, a introdução das leitoas deve ocorrer a partir de granjas com status sanitário equivalente, e o período de adaptação e quarentena deve ser realizado por no mínimo 30 dias.

Além disso, Villarreal *et al* (2009), ressalta que suínos vacinados com cepas de baixa virulência não estão imunes contra uma cepa que possui uma alta patogenicidade, no entanto, podem ocorrer reinfecções quando um animal é exposto a cepas com diferentes níveis de virulência, se tornando um grande desafio em lotes onde aconteça a mistura de suínos de várias origens.

A vacinação contra a bactéria *Mycoplasma hyopneumoniae* oferece diversos benefícios, como por exemplo: diminuição da carga de infecção nos pulmões, redução dos sinais clínicos e das lesões pulmonares (WOOLLEY *et al.*, 2014), além de um aumento no ganho de peso diário de 29,63 gramas/dia em suínos vacinados em comparação com suínos não vacinados (ELSBERND *et al.*, 2012).

A vacinação dos animais não impede a fixação ou colonização da bactéria no sistema respiratório (PIETERS *et al.*, 2010; VILLARREAL *et al.*, 2011), nem diminui a transmissão do *M. hyopneumoniae* (VILLARREAL *et al.*, 2011). Desse modo, vacinar os animais não previne a aderência/colonização da bactéria no trato respiratório (PIETERS *et al.*, 2010; VILLARREAL *et al.*, 2011) ou reduz a transmissão de *M. hyopneumoniae* (VILLARREAL *et al.*, 2011).

Várias vacinas para o controle da pleuropneumonia foram desenvolvidas, sendo que a maioria é composta por bactérias inativadas, chamadas de bacterinas; essas vacinas demonstram certa eficácia, reduzindo ou prevenindo a mortalidade, atenuando os sinais clínicos e diminuindo a incidência de lesões (LOPEZ-BERMUDEZ *et al.*, 2014). Para que uma vacina ou bacterina seja considerada eficiente, não deve haver reação tecidual no local da aplicação, e é necessário que ocorra

uma diminuição expressiva ou eliminação da mortalidade e morbidade (FEDORKA-CRAY *et al.*, 1993).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados dados de amostras de sangue em suínos de duas origens em granjas do Oeste do Paraná, nas cidades de Entre Rios do Oeste e Marechal Cândido Rondon no distrito municipal de São Roque, com o intuito de avaliar a efetividade imunológica das vacinas usadas para tomada de decisão em relação a protocolos de manejo e atualização de protocolos vacinais.

Os dados levantados foram fornecidos por uma empresa agropecuária e de nível nacional, que compilados somaram-se em:

Tabela 1 – Quantidade de amostras sanguíneas coletadas na Granja 1:

MODALIDADES	IDADES	N° DE ANIMAIS
Leitoas	15 semanas	10
Porcas	0, 1, 2, 3, 4, 5 ordens de parto	30
Leitões de creche	4, 6 e 9 semanas	15
Suínos de terminação	11, 14, 17, 21, e 24 semanas	25
Rufiões	30 semanas	2
TOTAL		82

Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Tabela 2 – Quantidade de amostras sanguíneas coletadas na Granja 2:

MODALIDADES	IDADES	N° DE ANIMAIS
Leitoas	15 semanas	10
Porcas	0, 1, 2, 3, 4, 5 ordens de parto	30
Leitões de creche	4, 6 e 9 semanas	15
Suínos de terminação	11, 14, 17, 21, e 24 semanas	25
Rufiões	30 semanas	2
TOTAL		82

Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Procurou-se dessa forma definir os níveis de anticorpos presentes, estabelecendo assim, o status sanitário das granjas avaliadas, auxiliando na tomada de decisão em relação a protocolos de manejo e atualização de protocolos vacinais.

O intuito principal das coletas, é obter um histórico geral da sanidade respiratória da integração, visando minimizar o impacto que essas doenças causam potencializando a margem de lucro. Com esse rastreio pode-se melhorar os índices como o ganho de peso diário, conversão alimentar e

consequentemente, a mortalidade, aumentando o número de animais disponíveis para abate e também reduzindo as perdas de condenação dentro do frigorífico.

O método utilizado pelo laboratório biotecnológico para realizar a análise foi o teste ELISA, para detectar a soro conversão de anticorpos referente aos agentes pesquisados, que foram: Influenza suína, *Mycoplasma hyopneumoniae* e *Actinobacillus pleuropneumoniae* (app).

O teste ELISA é realizado através de amostras de sangue que o laboratório coleta, onde é colocado em um tubo de ensaio para enviar para a análise da condição que será analisada. No laboratório, o plasma sanguíneo é colocado em placas com pequenos compartimentos, onde são adicionados antígenos específicos e enzimas, como peroxidase e fosfatase alcalina. Quando o anticorpo se liga ao antígeno, formando o complexo antígeno-anticorpo, ocorre uma mudança na cor da amostra no compartimento da placa, indicando um resultado positivo.

Trata-se de um estudo de campo, de caráter exploratório que utilizou o método indutivo e análise qualitativa. O embasamento teórico foi realizado através de referências bibliográficas do Google Acadêmico, Google Científico e biblioteca do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz.

4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

Com as coletas, foi possível obter as respostas imunológicas de cada agente em cada um dos lotes separadamente, onde contém cada fase e idade, quantidade de amostras de sangue coletadas, juntamente com a resposta imunológica e suas porcentagens.

Tabela 3 – Resposta imunológica de Influenza suína na Granja 1.

INFLEUNZA SUÍNA	Nº DE ANIMAIS	IMUNE	%
Leitoas 15 semanas	10	7	70%
Porcas (OP 0, 1, 2, 3, 4, 5)	30	1	3,3%
Leitões Creche (4, 6, 9 semanas)	15	12	80%
Leitões Terminação (11, 14, 17, 21, 24 semanas)	25	10	40%
Rufiões	2	0	0%
TOTAL	82	30	37%

Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Tabela 4 – Resposta imunológica de *Mycoplasma hyopneumoniae* na Granja 1.

MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE	Nº DE ANIMAIS	IMUNE	%
Leitoas 15 semanas	10	6	60%
Porcas (OP 0, 1, 2, 3, 4, 5)	30	2	6,6%
Leitões Creche (4, 6, 9 semanas)	15	8	53,3%
Leitões Terminação (11, 14, 17, 21, 24 semanas)	25	5	20%
Rufiões	2	0	0%
TOTAL	82	21	26%

Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Tabela 5 – Resposta imunológica de *Actinobacillus pleuropneumoniae* na Granja 1.

ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE	Nº DE ANIMAIS	IMUNE	%
Leitoas 15 semanas	10	9	90%
Porcas (OP 0, 1, 2, 3, 4, 5)	30	5	16,6%
Leitões Creche (4, 6, 9 semanas)	15	5	33,3%
Leitões Terminação (11, 14, 17, 21, 24 semanas)	25	25	100%
Rufiões	2	2	100%
TOTAL	82	46	56%

Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Tabela 6 – Resposta imunológica de Influenza suína na Granja 2.

INFLEUNZA SUÍNA	Nº DE ANIMAIS	IMUNE	%
Leitoas 15 semanas	10	9	90%
Porcas (OP 0, 1, 2, 3, 4, 5)	30	1	3,3%
Leitões Creche (4, 6, 9 semanas)	15	5	33,3%
Leitões Terminação (11, 14, 17, 21, 24 semanas)	25	14	56%
Rufiões	2	0	0%
TOTAL	82	29	35%

Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Tabela 7 – Resposta imunológica de *Mycoplasma hyopneumoniae* na Granja 2.

MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE	Nº DE ANIMAIS	IMUNE	%
Leitoas 15 semanas	10	2	20%
Porcas (OP 0, 1, 2, 3, 4, 5)	30	2	7%
Leitões Creche (4, 6, 9 semanas)	15	4	27%
Leitões Terminação (11, 14, 17, 21, 24 semanas)	25	7	28%
Rufiões	2	2	100%
TOTAL	82	17	21%

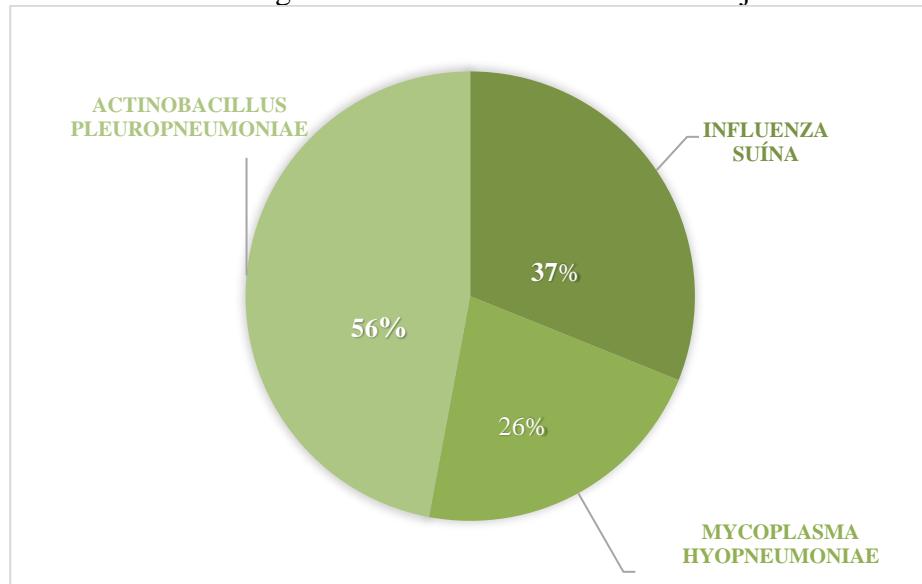
Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Tabela 8 – Resposta imunológica de *Actinobacillus pleuropneumoniae* na Granja 2.

ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE	Nº DE ANIMAIS	IMUNE	%
Leitoas 15 semanas	10	10	100%
Porcas (OP 0, 1, 2, 3, 4, 5)	30	10	33,3%
Leitões Creche (4, 6, 9 semanas)	15	5	33,3%
Leitões Terminação (11, 14, 17, 21, 24 semanas)	25	12	48%
Rufiões	2	0	0%
TOTAL	82	37	45%

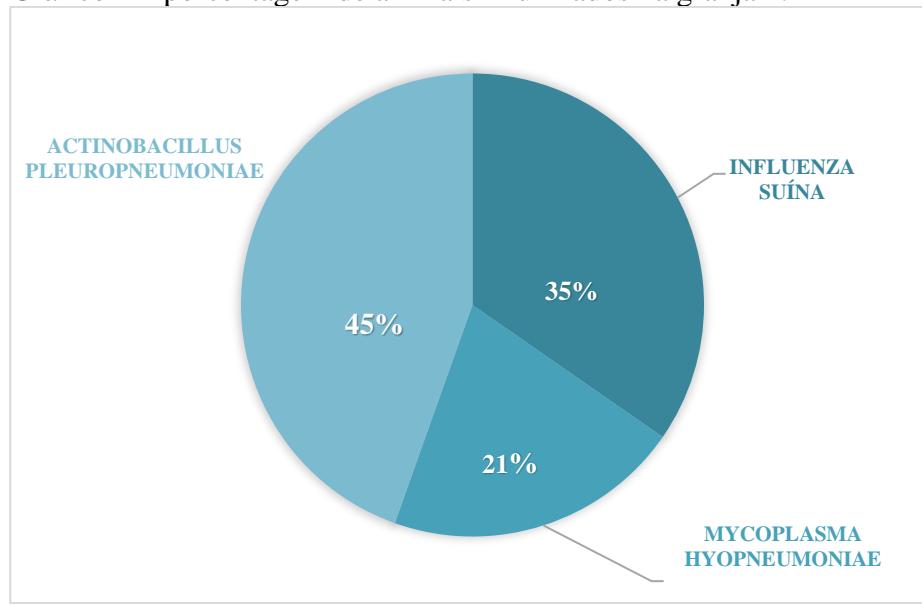
Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Gráfico 1 – Porcentagem de animais imunizados na Granja 1.



Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Gráfico 2 – porcentagem de animais imunizados na granja 2.



Fonte: Laboratório biotecnológico (2024).

Diante das tabelas e gráficos acima, a pesquisa mostrou que na Granja 1, localizada em Entre Rios do Oeste, das 82 amostras de sangue analisadas de cada agente pesquisado, 37% dos animais são imunizados para Influenza suína, 26% são imunizados para *Mycoplasma hyopneumoniae* e 56% são imunizados para *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Na Granja 2, localizada em Marechal Cândido Rondon, no distrito municipal de São Roque, das 82 amostras de sangue analisadas, 35% dos animais são imunizados para Influenza suína, 21% são imunizados para *Mycoplasma hyopneumoniae* e 45% são imunizados para *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Em relação a bactéria *App*, é possível perceber que é o agente com melhor resultado de anticorpos, tanto na Granja 1 quanto na Granja 2, mesmo ocorrendo uma oscilação de percentual. Kuchiishi *et al* (2007) cita que devemos considerar que existem vacinas comerciais no Brasil que induzem a formação de anticorpos.

O vírus Influenza A é o segundo agente que obteve maior percentual de anticorpos nos suínos das duas granjas. Segundo Ciacci-Zanella *et al* (2015), análises realizadas de soros coletados de granjas comerciais, podendo ser por teste ELISA ou inibição de hemaglutinação, mostra que ocorre um resultado superior a 60% de animais soropositivos para o vírus.

Contudo, a menor porcentagem de anticorpos produzidos, foi do *Mycoplasma hyopneumoniae*, que é o responsável pela pneumonia enzoótica nas granjas de suínos. Em estudos, Thacker *et al* (1997) não sabem ao certo qual tipo de resposta imune predomina na infecção por *Mhyo*; seja qual for a origem do antígeno, a produção de anticorpos não irá impedir a colonização pelo agente (THACKER *et al.*, 1998).

Erlandson *et al* (2005) cita que nos estágios iniciais da infecção do *Mhyo*, o teste ELISA pode não ser eficaz na detecção de anticorpos, podendo ser pelo fato do agente afetar os cílios do trato respiratório, apresentando pouca exposição ao sistema imunológico (THACKER, 2004).

A variância de porcentagem de imunidade vacinal, vai muito além da vacina em si, levando sempre em conta o estado atual da granja e sistema avaliado; a capacidade de cada animal produzir menos ou mais anticorpos, como por exemplo o anticorpo colostral transferido da mãe para o leitão; se os animais tiveram contato com o agente circulante; considerando também o protocolo vacinal de cada integração.

Entretanto, observa-se nos animais de ambas as granjas, uma oscilação de resultados, onde a imunização por meio das vacinas contra os agentes, não estão tendo uma resposta e expectativa esperada, necessitando uma maior atenção em relação a imunidade dos animais, para que com isso, aumente a porcentagem de anticorpos nos lotes. Para Influenza suína e *Mycoplasma hyopneumoniae*, a atenção sobre o uso das vacinas, devem ser dobradas, pois são os agentes que possuem uma quantidade maior de animais soropositivos.

A interpretação dos resultados deve ser realizada pensando sempre nas fases específicas que estão sendo avaliadas, de forma separada, pois como visto nas tabelas, ocorre a presença de animais imunizados e soropositivos para o mesmo agente, na mesma granja.

Em relação a eficácia das vacinas, em uma entrevista com o Departamento Técnico da empresa, é muito relativo, pois irá depender de vários fatores, como: vacina bem armazenada dentro da temperatura ideal de 2° a 8° graus; administração correta da vacina; a condição em que o animal se

encontra no dia e no momento da vacinação, podendo estar doente nesse dia; a rotina de manejo da granja e afins.

A realização da atualização das vacinas contra os agentes pesquisados, possui uma grande importância quando falamos sobre ter o controle dessas doenças dentro de uma granja, sendo necessário, estarmos dispostos a buscar cada vez mais pela saúde e sanidade dos suínos, para que com isso, possamos ter animais imunizados, diminuindo a porcentagem de mortalidade e falta de ganho de peso dentro dos sistemas de produção.

Em conversa com o Departamento Técnico da empresa, foi citado que farão a troca das respectivas vacinas, pois com os resultados obtidos, foi visto que não está sendo eficaz o uso da mesma, sendo que a expectativa de imunidade das vacinas é de 85 a 92% ou acima. O protocolo de atualização das vacinas, é de extrema importância, tanto para a empresa, quanto ao produtor que busca e preza tanto pela qualidade do seu lote, tendo como consequência, melhores resultados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho teve como finalidade observar a imunidade vacinal dos animais avaliados frente aos principais agentes causadores das doenças respiratórias nas diversas idades pesquisadas, por meio do diagnóstico das amostras de soro sanguíneo, obtendo um posicionamento para manejo dos protocolos vacinais.

Foi possível observar que a partir das respostas imunitárias, podemos observar que essas patologias presentes no dia a dia na suinocultura de forma geral, gera um desafio para os Médicos Veterinários que terão que reavaliar suas decisões técnicas analisando as respectivas respostas, obtendo um panorama geral de sanidade dos animais, auxiliando nas tomadas de decisões técnicas, buscando sempre melhorar estratégias de manejo e tratamento, visando minimizar o impacto econômico que essas doenças provocam corrigindo possíveis distorções, potencializando a margem de lucro.

Com esse rastreio, pode-se melhorar os índices como ganho de peso diário, conversão alimentar e consequentemente a mortalidade, aumentando o número de animais disponíveis para o abate e também reduzindo as perdas de condenação dentro do frigorífico.

Sendo que a expectativa do Departamento Técnico da Empresa era uma imunidade geral de 95% nas respectivas granjas, foi tomada a decisão técnica de substituir o protocolo vacinal atual.

REFERÊNCIAS

- BROWN, I.H. The epidemiology and evolution of influenza viroses in pigs. **Veterinary Microbiology**, v. 74, p. 29-46, 2000.
- BROWN, I.H.; DONE, S.H.; SPENCER, Y.I.; COOLEY, W.A.; HARRIS, P.A.; ALEXANDER, D.J. Pathogenicity of a swine influenza H1N1 virus antigenically distinguishable from Classical and European strains. **Veterinary Record**, v.132, p. 598-602, 1993.
- CARON, L.F.; JOINEAU, M.E.G.; SANTIN, E.; RICHARDZ, R.R.T.B.; PATRICIO, M.A.C.; SOCCOL, V.T. Seroprevalence of H3N2 influenza pigs in virus from Paraná (South Brazil): Interference of the animal management and climatic conditions. **Virus Reviews and Research**. v. 15, p. 63-73, 2010.
- CASSIANO, L. L. **Implementação de técnicas moleculares e microscopia eletrônica de transmissão para pesquisa de *Mycoplasma hyopneumoniae* em suínos**. 2015.
- CIACCI-ZANELLA, J.R.C.; VINCENT, A.L.; SCHAEFER, R.; CARON, L. Influenza em suínos no Brasil: O problema e o que pode ser feito para manter a infecção controlada nas granjas afetadas. In: **VI SINSUI - Simpósio Internacional de Suinocultura**. Anais. p. 85-94, 2011.
- CIACCI-ZANELLA, J.R.; SCHAEFER, R.; GAVA, D.; HAACH, V.; CANTÃO, M.E.; COLDEBELLA, A. Influenza A virus infection in Brazilian swine herds following the introduction of pandemic 2009 H1N1. **Veterinary Microbiology**, v.180, p.118-122, DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.08.021. 2015.
- DESROSIERS, R.; MOORE, C. Indirect transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Swine Health and Production**, 6(6): 263-265, 1998.
- DOS SANTOS, J.L.; DOS SANTOS, L.F.; MATOS, M.C.; SOBESTIANSKY, J. & BARCELLOS, D. Micoplasmoses. In: Doenças dos Suínos. Eds. SOBESTIANSKY, J. & BARCELLOS, D. 2. ed. Goiânia: Cânone Editorial, p.216-229. 2012.
- DUTRA, V.; PIFFER, I.; VARGAS, A.C. de; GUIDONI, A.; KLEIN, C. Padronização do teste ELISA baseado em antígeno capsular purificado dos sorotipos 3, 5 e 7 de *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Ciência Rural**, v.30, p.281-286, DOI: 10.1590/S0103-84782000000200014. 2000.
- EASTERDAY, B.C; VAN REETH, K. Swine influenza. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Ed.). **Diseases of swine**. 8 ed. Ames: Iowa State University Press. P. 277-290. 1999.
- ELSBERND, A.; JOHNSON, A.K.; STALDER, K.J.; KARRIKER, L.A.; O'CONNOR, A. M.; DINSLAGE, T. & BOWDEN, J. A review on the impact of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination on average daily gain in swine. **Iowa State University Animal Industry Report**. 658, 1-5. 2012.
- FEDORKA-CRAY, P.J.; STINE, D.L.; GREENWALD, J.M.; GRAY, J.T.; HUETHER, M.J. AND ANDERSON, G.A. The importance of secreted factors in *Actinobacillus pleuropneumoniae* bacterin preparation: a comparison. **VetMicrobiol**, 37: 85-100. 1993.

FRAILE L., ALEGRE A., LÓPEZ-JIMÉNEZ R., NOFRARÍAS M. & SEGALÉS J. **Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs.** Vet. J. 184:326-333. 2010.

GOTTSCHALK, M.; BROES, A. ACTINOBACILLOSIS. IN: ZIMMERMAN, J.J., KARRIKER, L.A., RAMIREZ, A., SCHWARTZ, K.J., STEVENSON, G.W., ZHANG, J. **Diseases of swine.** 11th ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, p.749-766. 2019.

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.** J. Comp. Pathol. 143:120-131. 2010.

KICH, J.D.; KUCHIISHI, S.S.; MORES, M.A.Z. & LARA, A.C. Agentes bacterianos de pneumonia associados a infecção por *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Acta Scientiae Veterinariae** 38, 17-27. 2010.

KLEIN, C.S.; PIFFER, I.A.; SILVA, S.C. da; SCHRANK, A.; FÁVERO, M.B.; SCHRANK, I.S. Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by PCR on field strains from healthy and diseased pigs. **Current Microbiology**, v 46, p.443-447, 2003.

KUCHIISHI, S.S.; KICH, J.D.; RAMENZONI, M.L.F.; SPRICIGO, D.; KLEIN, C.S.; FÁVERO, M.B.B; PIFFER, I.A. **Sorotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolados no Brasil de 1993 a 2006.** Acta Scientiae Veterinariae, v.35, p.79-82, 2007.

LEE, K.E.; CHOI, H.W.; KIM, H.H.; SONG, J.Y.; YANG, D.K. Prevalence and Characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Isolated from Korean Pigs. **Journal of Bacteriology and Virology**, 45(1): 19-25, 2015.

LIN J.H., CHEN S.P., YEH K.S; WENG C.N. *Mycoplasma hyorhinis* in Taiwan: diagnosis and isolation of swine pneumonia pathogen. **Vet. Microbiol.** 115:111-116. 2006.

LIU, L., LI, R., ZHANG, R., WANG, J., AN, Q., HAN, Q., WANG, J; YUAN, W. Rapid and sensitive detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* by recombinase polymerase amplification assay. **Journal of Microbiological Methods**, 159, 56–61. 2019.

LOERA-MURO, V.; LOERA-MURO, A.; MORFÍN-MATA, M.; JACQUES, M.; AVELAR-GONZÁLEZ, F.J.; RAMÍREZ-CASTILLO, F.; RAMÍREZ-LÓPEZ, E. M.; GUERRERO-BARRERA, A. L. Porcine Respiratory pathogens in swine farms environment in Mexico. **Open Journal of Animal Sciences**, 4(4): 196-205. 2014.

LOPEZ-BERMUDEZ, J.; QUINTANAR-GUERRERO, D.; PUENTEE, H.L.; PEREZC, J.T.; GUEMEZ, F.S.; CARRASCOA, A.C; ELVIRA, S.M. **Oral immunization against porcine pleuropneumonia using the cubic phase of monoolein and purified toxins of *Actinobacillus pleuropneumoniae*.** Vaccine, 32: 6805-6811. 2014.

LOWE, J. F. Control of influenza A viruses in large production systems. In: 39th **Annual Meeting of American Association of Swine Veterinarians. Proceedings.** p. 553, 2008

MAES, D., SEGALES J., MEYNS T., SIBILA M., PIETERS M; HAESEBROUCK F. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. **Vet. Microbiol.** 126:297-309. 2008.

MAES, D., SEGALES J., MEYNS, T., SIBILA, M., PIETERS, M; HAESEBROUCK, F. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. **Veterinary Microbiology**, 126(4), 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.09.008>. 2008.

NATHUES, H.; WOESTE, H.; DOEHRING, S.; FAHRION, A.S.; DOHERR, M.G; GROSSE BEILAGE, E. Herd specific risk factors for *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in suckling pigs at the age of weaning. **Acta Veterinary Scandinavia** 55, 1- 13. 2013.

NIELSEN, R. Seroepidemiology of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **The Canadian Veterinary Journal**, 29(7): 580-582, 1988.

OPRIESSNIG T., GIMÉNEZ-LIROLA L.G; HALBUR P.G. Polymicrobial respiratory disease in pigs. **Anim. Health Res. Rev.** 12:133-148. 2011.

PALZER A., RITZMANN M., WOLF G; HEINRITZI K. **Associations between pathogens in healthy pigs and pigs with pneumonia**. **Vet. Rec.** 162:267-271. 2008.

PIETERS, M; FANO, E. *Mycoplasma hyopneumoniae* management in gilts. **Veterinary Records**. 178, 122- 123. 2016.

PIETERS, M.; FANO, E.; PIJOAN, C; DEE, S. An experimental model to evaluate *Mycoplasma hyopneumoniae* transmission from asymptomatic carriers to unvaccinated and vaccinated sentinel pigs. **Canadian Journal of Veterinary Research** 74, 157-160. 2010.

SANTOS, J.L.; BARCELLOS, D; MORÉS, N. Pleuropneumonia. In: SOBESTIANSKY, J.; E BARCELLOS, D. **Doenças de Suínos**, Goiânia: Cânone Editorial. pp. 241-246. 2012.

SIBILA, MARINA, PIETERS, M., MOLITOR, T., MAES, D., HAESEBROUCK, F., & SEGALÉS, J. Current perspectives on the diagnosis and epidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. **The Veterinary Journal**, 181(3), 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.020>. 2009.

SØRENSEN, V., AHRENS, P., BARFOD, K., FEENSTRA, A. A., FELD, N. C., FRIIS, N. F., BILLE-HANSEN, V., JENSEN, N. E., & PEDERSEN, M. W. *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs: duration of the disease and evaluation of four diagnostic assays. **Veterinary Microbiology**, 54(1), 23–34. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(96\)01266-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(96)01266-7). 1997.

TAKEUTI, K. L; BARCELLOS, D. E. S. N. O que há de novo sobre a infecção por *Mycoplasma hyopneumoniae* em suínos. **Avanços Em Sanidade, Produção e Reprodução de Suínos II**, 53, 6. 2017.

THACKER, E. L.; BOETTCHER, T.B.; THACKER, B.J. Lymphocyte populations and antibody production in vaccinated and non-vaccinated pigs challenged with *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Swine Research Report**, n.62, 1997.

THACKER, E.L.; THACKER, B.J.; BOETTCHER, T.B.; JAYAPPA, H. Comparison of antibody production, lymphocyte stimulation, and protection induced by four commercial *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterins. **Swine Health and Production**, v.6, n.3, p. 107-112, 1998.

THACKER, E.L. Diagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Animal Health Research Reviews**, v.5, n.2, p. 317-320, 2004.

THACKER E.L. Mycoplasmal diseases, p.701-717. In: STRAW B.E., ZIMMERMAN J.J., D'ALLAIRE S. & TAYLOR D.J. (Eds), **Diseases of Swine**. 9th ed., Blackwell Publishing, Oxford. 2006.

VAN REETH K., BROWN I.H; OLSEN C.W. Influenza virus, p.557-571. In: ZIMMERMAN J.J., KARRIKER L.A., RAMIREZ A., SCHWARTZ K.J. & STEVENSON G.W. (Eds), **Diseases of Swine**. 10th ed. Iowa State University Press, Ames. 2012.

VELTHUIS, A.G.J.; DE JONG, M.C.M.; STOCKHOFE N.; VERMEULEN, T.M.M.; KAMP, E.M. Transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs is characterized by variation in infectivity. **Epidemiology & Infection**, 129(1): 203-214, 2002.

VILLARREAL, I.; MAES, D.; MEYNS, T.; GEBRUERS, F.; CALUS, D.; PASMANS, F. & HAESEBROUCK, F. Infection with a low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolate does not protect piglets against subsequent infection with a highly virulent **M. hyopneumoniae** isolate. **Vaccine**. 27, 1875-9. 2009.

VILLARREAL, I.; MEYNS, T.; DEWULF, J.; VRANCKX, K.; CALUS, D.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F. & MAES, D. The effect of vaccination on the transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in pigs under field conditions. **Veterinary Journal**. 188, 48-52. 2011.

VRANCKX, K.; MAES, D.; CALUS, D.; VILLARREAL, I.; PASMANS, F. & HAESEBROUCK, F. Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis is a suitable tool for differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae* strains without cultivation. **Journal of Clinical Microbiology**. 49, 2020-2023. 2011.

WOOLLEY, L.K.; FELL, S.A.; GONSALVES, J.R.; RAYMOND, B.B.A.; COLLINS, D.; KUIT, T.A.; WALKER, M.J.; DJORDJEVIC, S.P.; EAMENS, G.J. & JENKINS, C. Evaluation of recombinant *Mycoplasma hyopneumoniae* paralogs formulated with selected adjuvants as vaccines against mycoplasmal pneumonia in pigs. **Vaccine**. P97/P102 32, 4333-4341. 2014.