

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 01/12/2022.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP CÂMPUS DE  
JABOTICABAL**

**ESTRATÉGIAS QUIMIOTERÁPICAS COM VALNEMULINA,  
TILMICOSINA E TULATROMICINA PARA CONTROLE DA  
INFECÇÃO PELO *Mycoplasma hyopneumoniae* EM SUÍNOS**

**Giovani Marco Stingelin**

Médico Veterinário

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP CÂMPUS DE  
JABOTICABAL**

**ESTRATÉGIAS QUIMIOTERÁPICAS COM VALNEMULINA,  
TILMICOSINA E TULATROMICINA PARA CONTROLE DA  
INFECÇÃO PELO *Mycoplasma hyopneumoniae* EM SUÍNOS**

**Discente: Giovani Marco Stingelin**

**Orientador: Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área: Clínica Médica Veterinária.

S859e Stingelin, Giovani Marco  
Estratégias quimioterápicas com Valnemulina, Tilmicosina e  
Tulatromicina para controle da infecção pelo *Mycoplasma*  
*hyopneumoniae* em suínos / Giovani Marco Stingelin. --  
Jaboticabal, 2022  
72 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
Orientador: Luís Guilherme de Oliveira

1. leitões. 2. doenças respiratórias. 3. pneumonia enzoótica.  
4. matafilaxia. 5. antimicrobianos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo  
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ESTRATÉGIAS QUIMIOTERÁPICAS COM VALNEMULINA, TILMICOSINA E TULATROMICINA PARA CONTROLE DA INFECÇÃO PELO *Mycoplasma hyopneumoniae* EM SUÍNOS

**AUTOR: GIOVANI MARCO STINGELIN****ORIENTADOR: LUIS GUILHERME DE OLIVEIRA**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUIS GUILHERME DE OLIVEIRA (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. CESAR AUGUSTO POSPISSIL GARBOSSA (Participação Virtual)  
Departamento de Nutrição e Produção Animal-VNP-FMVZ/USP / Pirassununga/SP

Prof. Dr. HENRIQUE MEIROZ DE SOUZA ALMEIDA (Participação Virtual)  
Colégio Técnico Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. LIVIA MENDONÇA PASCOAL (Participação Virtual)  
Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás-UFG / Goiânia/GO

Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD (Participação Virtual)  
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 01 de dezembro de 2021

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Médico Veterinário graduado pela Universidade Federal do Paraná - Câmpus Palotina (2006). Possui Especialização em Higiene e Processamento de Produtos de Origem Animal pela UFPR - câmpus Palotina (2009), possui MBA em Gestão Estratégica do Agronegócio pela Fundação Getúlio Vargas (FGV) (2013). Mestre em Medicina Veterinária na Área de Clínica Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, câmpus de Botucatu (2015 -2016). Doutorando da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP - Jaboticabal-SP na área de Medicina Veterinária Preventiva sob orientação do Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira. Em 2020 foi editor do livro Sanidade e Produção Suína: Atualização, Inovação e tecnologia. Atuou na agroindústria durante sete anos entre 2006 e 2013, como gerente de agropecuária e fomento da Seara Alimentos S.A, ingressou na indústria farmacêutica veterinária em 2014, na Farmabase Saúde Animal, onde atualmente é Gerente Técnico de Suinocultura e Avicultura.

“Ninguém é suficientemente perfeito que não possa aprender com o outro, e ninguém é totalmente destituído de valores que não possa ensinar algo ao seu irmão.”

São Francisco de Assis

À minha amada mãe Bere (*in memoriam*).



## AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado força nesses últimos anos que tive que enfrentar muitas adversidades e aprender a lidar com a perda.

Ao professor Luís Guilherme pela orientação e pela amizade!

A FCAV – UNESP – Jaboticabal pela oportunidade de fazer parte do seleto grupo de profissionais que tem acesso à educação continuada da mais alta qualidade.

Ao meu pai, a quem eu cresci vendo lecionar 60h/aula por semana para que seus dois filhos tivessem condições de realizar a graduação em Medicina Veterinária em duas das melhores universidades públicas do país.

À minha mãe que infelizmente nos deixou no segundo ano desse doutorado, após termos lutado juntos contra um câncer de cólon. Você mãe, sempre me estimulou a seguir buscando a perfeição, em tudo, sempre nos mínimos detalhes.

À minha esposa Daiana pela paciência nas horas em que eu perdi a minha, em tempos de tantos desafios e muitas tristezas, amo você e te admiro muito!

Às minhas filhas Ana Carolina e Luísa por me fazerem rir e valorizar a vida.

Aos amigos e colegas de pós-graduação, Marina, Gabriel, Karina, Henrique pelo apoio nas análises laboratoriais, nas análises estatísticas e no suporte da redação.

À Farmabase Saúde Animal, comprometida com a saúde animal financiou esse estudo que foi longo e oneroso, mas que está alinhado com o perfil inovador da empresa na busca das melhores ferramentas, para garantir a saúde e a melhora da performance de aves e suínos.

<b>SUMÁRIO</b>	<b>página</b>
CERTIFICADO COMISSÃO DE ÉTICA PARA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I – Considerações gerais.....	01
1 INTRODUÇÃO .....	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Problemática das enfermidades respiratórias a campo.....	03
2.2 <i>M. hyopneumoniae</i> como patógeno primário.....	05
2.3 Impacto produtivo causado pela Pneumonia Enzoótica.....	07
2.4 Desafios em relação ao tratamento e alternativas farmacológicas.....	09
3 REFERÊNCIAS.....	13
CAPÍTULO II – Estratégias quimioterápicas com Valnemulina, Tilmicosina e Tulatromicina para controle da infecção pelo <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> em suínos.....	17
Resumo.....	17
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
2.1 Propriedade em que o estudo foi conduzido.....	19
2.2 Design experimental.....	20
2.3 Coleta de amostras.....	21
2.4 Contagem de tosse e espirro.....	22
2.5 Desempenho zootécnico.....	22
2.6 Registro de mortalidade.....	23
2.7 Abate dos animais – avaliação e colheita de amostras.....	23
2.8 Detecção e quantificação de anticorpos por ELISA.....	25
2.9 Extração de DNA e realização de cPCR para o gene gapdh.....	25
2.10. Detecção e quantificação de <i>M. hyopneumoniae</i> por qPCR.....	25
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4. RESULTADOS.....	28
4.1 Quantificação de IgG no soro dos suínos ao longo do tempo.....	28

4.2 Detecção e Quantificação de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> por qPCR em suabe nasal.....	30
4.3 Avaliação dos indicadores sanitários.....	32
4.3.1 Teste de tosse.....	33
4.3.2 Registro de mortalidade.....	33
4.4 Avaliação dos indicadores zootécnicos.....	33
4.5 Quantificação de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> em lavado traqueobrônquico e tecido pulmonar por qPCR.....	37
4.6. Avaliação dos cornetos nasais e das lesões pulmonares.....	38
4.6.2 Determinação do Índice para Pneumonia (IPP).....	38
4.7 Análises histopatológicas.....	39
5. DISCUSSÃO.....	40
6. CONCLUSÃO.....	47
7. AGRADECIMENTO.....	47
8. CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES.....	47
9. CONFLITO DE INTERESSES.....	47
10. REFERÊNCIAS.....	48
11. MATERIAL SUPLEMENTAR.....	52
CAPÍTULO III - Aspectos farmacológicos da valnemulina, tilmicosina e tulatromicina aplicados ao tratamento de doenças respiratórias em suínos.....	53
Resumo.....	53
1. INTRODUÇÃO.....	54
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	55
2.1 Estudo de Farmacocinética <i>in vivo</i> .....	56
2.1.1 Etapa clínica – tilmicosina.....	56
2.1.2 Etapa clínica – valnemulina.....	56
2.1.3 Etapa clínica – tulatromicina.....	57
2.1.4 Colheita de amostras dos estudos.....	57
2.2 Determinação da concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima de patógenos respiratórios.....	59

3. RESULTADOS.....	60
3.1 Avaliação da concentração de tilmicosina no tecido alvo e Concentração Inibitória Mínima.....	61
3.2 Avaliação da concentração de valnemulina no tecido alvo.....	62
3.3 Avaliação da concentração de tulatromicina no tecido alvo.....	64
4. DISCUSSÃO.....	66
5. CONCLUSÃO.....	70
6. AGRADECIMENTO.....	71
7. CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES.....	71
8. CONFLITO DE INTERESSES.....	71
9. REFERÊNCIAS.....	71



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Jaboticabal



## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Quimioterapia com valnemulina em suínos para redução da prevalência de *Mycoplasma hyopneumoniae*, das lesões pulmonares no abate e para incremento do bem-estar-animal", protocolo nº 009149/18, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luis Guilherme de Oliveira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 05 de julho de 2018.

Vigência do Projeto	01/08/2018 a 01/12/2019
Espécie / Linhagem	Suína
Nº de animais	540 Leitões, 40 matrizes (porcas)
Peso / Idade	Leitões – do nascimento (1,3 Kg) até abate (120 Kg), porcas (220 Kg)
Sexo	Amixos os sexos
Origem	Granja comercial de Ponte Nova - MG

Jaboticabal, 05 de julho de 2018.

*Fabiana Pilarski*  
Profª Drª Fabiana Pilarski  
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias  
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/nº CEP 14094-900 - Jaboticabal/SP - Brasil  
tel 16 3209 1100 - www.fca.unesp.br

## **Estratégias quimioterápicas com Valnemulina, Tilmicosina e Tulatromicina para controle da infecção pelo *Mycoplasma hyopneumoniae* em suínos**

**RESUMO** – *Mycoplasma hyopneumoniae*, é considerado como agente primário da Pneumonia Enzoótica Suína e atua no Complexo de Doenças Respiratórias dos Suínos (CDRS). As medidas de controle para o *M. hyopneumoniae* demandam ações estratégicas que compreendem vacinação, medidas de biossegurança e tratamentos farmacológicos efetivos. O presente estudo teve como objetivo avaliar o uso de fármacos antimicrobianos frente a infecção por *M. hyopneumoniae* a campo. Estudos de farmacocinética dos antimicrobianos, valnemulina, tilmicosina e tulatromicina, bem como uma etapa experimental a campo foram conduzidos para avaliar diferentes protocolos terapêuticos frente a dinâmica de infecção por *M. hyopneumoniae*. Para o estudo a campo, foram selecionadas fêmeas prenhes e suas leitegadas, que foram acompanhadas ao longo das fases até o abate. Ao todo, foram formados quatro grupos: grupo 1: animais não medicados (controle); grupo 2: leitões medicados com valnemulina (10mg/kg), nascidos de fêmeas previamente medicadas com valnemulina (10mg/kg); grupo 3 (G3): leitões medicados com valnemulina (10 mg/kg) e tilmicosina (20 mg/kg) em dois momentos, nascidos de fêmeas previamente medicadas com tulatromicina (2,5mg/kg); e grupo 4 (G4): leitões medicados com valnemulina (5 mg/Kg) em dois momentos, nascidos de fêmeas que foram medicadas previamente ao parto, com valnemulina (5 mg/Kg). Dados de desempenho foram registrados para cada fase e os leitões foram avaliados quanto a ocorrência de tosse e submetidos periodicamente a colheita de amostras de sangue e suabe nasal para avaliação dos títulos IgG anti- *M. hyopneumoniae* detecção e quantificação de *M. hyopneumoniae* por qPCR. Ao abate, aos pulmões dos animais foram avaliados e amostras foram colhidas para exames histopatológicos e de quantificação de *M. hyopneumoniae* por qPCR. Todos os protocolos terapêuticos apresentaram redução nas lesões de consolidação pulmonares e os indivíduos do grupo G2, envolvendo a administração exclusivamente de valnemulina apresentaram melhores resultados zootécnicos, menor mortalidade e baixa carga bacteriana no pulmão. Os resultados são promissores e podem indicar possíveis aliados no controle estratégico da infecção por *M. hyopneumoniae* e do complexo de doença respiratória dos suínos.

**Palavras-chave:** leitões, doenças respiratórias, pneumonia enzoótica, matafilaxia, antimicrobianos

## **Chemotherapeutic Strategies with Valnemulin, Tilmicosin and Tulathromycin to control *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs**

**ABSTRACT** - *Mycoplasma hyopneumoniae* is considered the primary agent of Enzootic Pneumonia and is part of the Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC). Control of *M. hyopneumoniae* requires strategic measures that include vaccination, biosafety measures, and effective pharmacological treatments. This study aimed to evaluate the use of antimicrobial drugs against *M. hyopneumoniae* infection in the field. A Pharmacokinetic Study of antimicrobials, valnemulin, tilmicosin, and tulathromycin, and also an experimental stage in the field, were carried out to evaluate different therapeutic protocols against the infection by *M. hyopneumoniae*. For the field study, pregnant females and their litters were selected. The piglets were followed through the production phases until slaughter. Altogether, four groups were formed: group 1: non-medicated animals (control); group 2: piglets medicated with valnemulin (10mg/kg), born to females previously medicated with valnemulin (10mg/kg); group 3 (G3): piglets medicated with valnemulin (10 mg/kg) and tilmicosin (20 mg/kg) in two moments, born to females previously medicated with tulathromycin (2.5mg/kg); and group 4 (G4): piglets medicated with valnemulin (5 mg/kg) in two moments, born to females that were medicated previously to farrowing, with valnemulin (5 mg/kg). Performance data were recorded for each phase, and the piglets were evaluated for coughing and periodically submitted to blood and nasal swabe samples collection for evaluation of *anti-M. hyopneumoniae* IgG and detection and quantification of *M. hyopneumoniae*, respectively. At slaughter, the lungs were evaluated and samples were collected for histopathological examinations and quantification of *M. hyopneumoniae* by qPCR. All therapeutic protocols showed a reduction in pulmonary consolidation lesions and individuals in group G2, involving the administration of valnemulin exclusively, presented better zootechnical results, lower mortality, and low bacterial load in the lung. The results are promising and may indicate possible allies in the strategic control of *M. hyopneumoniae* infection and the swine respiratory disease complex.

**Keywords:** piglets, respiratory diseases, enzootic pneumonia, metaphylaxis, antimicrobials

## CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

### 1. Introdução

As doenças respiratórias dos suínos integram a principal causa de grandes perdas econômicas para a produção intensiva mundial de suínos. O complexo de doenças respiratórias dos suínos (CDRS) é responsável por importantes perdas econômicas para a suinocultura e o impacto do CDRS nos rebanhos de suínos é manifestado pela apresentação clínica na forma de tosse, dispneia, apatia, atraso no crescimento e aumento de mortalidade.

Na suinocultura moderna, os sistemas de produção industriais vêm evoluindo de forma constante, de acordo com a demanda de carne suína, o que têm levado à adoção de métodos de produção otimizados. Com isto, ocorreu aumento da densidade de animais, instalações que não comportam a quantidade de animais alojados, bem como, maior concentração de granjas em determinadas regiões geográficas.

Em contra partida, estas condições são tidas como fatores de risco associados a ocorrência de enfermidades infecciosas nos rebanhos. Infecções sistêmicas virais como o Circovírus suíno tipo II (PCV-2) e o vírus da Influenza suína causam imunossupressão e ampliam os riscos de disseminação de enfermidades infecciosas de origem bacteriana, como *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Glaesserella parasuis* e *Streptococcus suis*, principalmente as que compõem o complexo de doenças respiratórias dos suínos (CDRS), responsável por prejuízos econômicos e sanitários significativos.

O acometimento dos rebanhos por doenças respiratórias implica em inúmeros prejuízos econômicos tais como: piora no ganho de peso diário e da conversão alimentar, aumento na mortalidade, eleva os custos com medicamentos e vacinas, aumenta o tempo de alojamento, o qual exige mais mão-de-obra e disponibilidade de instalações, além das perdas no frigorífico por condenações relacionadas com pneumonias, pleurites e abscessos.

O *M. hyopneumoniae*, é considerado um patógeno primário no CDRS, pelo fato de causar ciliostase, aumento da retenção de muco e modulação do sistema imunológico dos suínos, e com isto, favorece a ocorrência de pneumonia por outros



patógenos considerados secundários como *P. multocida*, *S. suis*, *B. bronchyseptica*, *G. parasuis* e *A. pleuropneumoniae*.

Ainda, o *M. hyopneumoniae* tem como característica a adesão à superfície do epitélio ciliado do trato respiratório o que dificulta a ação dos mecanismos de defesa, bem como reduz a eficácia de tratamentos com antimicrobianos. Outro fator em relação a terapêutica, é que esse microrganismo não possui parede celular, o que faz com que o uso de diversos antimicrobianos seja ineficaz contra este patógeno.

A valnemulina é um antimicrobiano semissintético da classe das pleuromutilinas com extraordinária atividade contra bactérias do gênero *Mycoplasma* e demais bactérias anaeróbicas. A atividade dessa molécula frente ao *M. hyopneumoniae* apresenta resultados superiores quando comparada a ação de compostos pertencentes a classe dos macrolídeos. A valnemulina é utilizada somente em animais, mais especificamente em suínos e disponibilizado somente de forma oral, sendo dessa forma, um fármaco de última geração que possivelmente sofrerá menos restrições futuras quanto ao uso na medicina veterinária, pois a probabilidade de causar resistência bacteriana cruzada em humanos é menor.

No momento do início desse estudo, esta molécula não era comercializada no Brasil para terapêutica em suínos. Desta forma, buscou-se verificar a biodisponibilidade de valnemulina no tecido pulmonar pela detecção do ativo no tecido-alvo usando cromatografia líquida de alta precisão, correlacionando os resultados com o teste de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), para bactérias patogênicas isoladas de casos clínicos de suínos, causadoras de pneumonia e provenientes de bancos de cepas.

Outros antimicrobianos que foram avaliados nesse estudo quanto a sua biodisponibilidade pulmonar e correlacionados com os testes de CIM e CBM, foram tulatromicina e tilmicosina, da classe dos macrolídeos.

A tulatromicina é um macrolídeo semissintético, pertencente ao grupo das azalidas, sub-classe triamilídeo, caracterizado pelo maior espectro de ação, sendo capaz de atuar contra microorganismos Gram-negativos e com características farmacocinéticas muito favoráveis para tratamentos respiratórios como o tempo de meia-vida pulmonar de seis dias, alta concentração no tecido pulmonar e nas células de defesa. A tulatromicina é administrada de forma injetável intramuscular em suínos.

A tilmicosina possui propriedades farmacocinéticas e espectro de ação muito similares a da tulatromicina, porém, só pode ser administrada via oral para suínos, a administração via injetável intramuscular causa vômitos, taquipneia, convulsões e pode causar morte. A tilmicosina é um macrolídeo semi-sintético derivado da tilosina, com amplo espectro de ação contra patógenos respiratórios, alta afinidade pelo tecido pulmonar e pelas células de defesa e com propriedades anti-inflamatórias já descritas. Na etapa a campo do presente estudo, foram aplicados protocolos medicamentosos metafiláticos avaliando alternativas para a redução da transmissão de *M. hyopneumoniae* entre as matrizes e os leitões na fase de maternidade, redução da pressão de infecção nas granjas, diminuição da imunossupressão causada por *M. hyopneumoniae* e, conseqüentemente, melhora do bem-estar dos animais com redução no número de animais enfermos e nas perdas causadas por abscessos/pleurites no abate.

Por fim, o estudo proposto é de grande importância para a suinocultura, visto que estudos avaliando a redução da transmissão do *M. hyopneumoniae* por meio do uso de terapêutica metafilática são escassos e também pelo fato de que atualmente a valnemulina não é comercializada no Brasil. Portanto, os estudos de campo são fundamentais para avaliar a ação desta molécula, bem como a aplicabilidade e resultados do uso do princípio ativo a campo.

## **6. Conclusão**

Existem evidências de que melhores resultados em relação ao desempenho dos indivíduos foram alcançados graças a pulsos medicamentosos e que a valnemulina seja mais efetiva que as demais moléculas avaliadas em protocolos medicamentosos metafiláticos. Os protocolos que utilizaram 5 e 10mg/Kg de valnemulina em fêmeas e leitões demonstraram ser os mais promissores em aliar a manutenção e melhoria da produtividade possibilitando a redução da quantidade total de antimicrobianos administrados aos animais. Ainda, pode estar relacionado a uma melhoria da saúde respiratória.

## **7. Agradecimentos**

À Farmabase Saúde Animal Ltda pelo suporte financeiro e agradecemos aos membros do Laboratório de Medicina de Suínos – Unesp/FCAV pelo apoio com as colheitas e auxílio com avaliações laboratoriais, ao Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, Brasil.

## **8. Contribuição dos autores**

Todos os autores do presente manuscrito contribuíram igualmente em todas as etapas com a idealização do estudo, execução, análise e redação.

## **9. Conflito de interesses**

G.M.S é colaborador da empresa Farmabase Saúde Animal, Brasil.

## 7. Referências Bibliográficas

1. Thacker, E.L.; Minion, F.C. *Mycoplasmosis. Diseases of Swine*, 10th ed.; John Wiley and Sons Inc.: USA, 2012.
2. Sibila, M.; Pieters, M.; Molitor, T.; Maes, D.; Haesebrouck, F.; Segalés, J. Current Perspectives on the Diagnosis and Epidemiology of Mycoplasma Hyopneumoniae Infection. *Vet. J.* **2009**, *181* (3), 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.020>.
3. STÄRK, K.D.C. Epidemiological Investigation of the Influence of Environmental Risk Factors on Respiratory Diseases in Swine—A Literature Review. *Vet. J.* **2000**, *159* (1), 37–56. <https://doi.org/10.1053/tvj.1999.0421>.
4. Holst, S.; Yeske, P.; Pieters, M. Elimination of Mycoplasma Hyopneumoniae from Breed-to-Wean Farms: A Review of Current Protocols with Emphasis on Herd Closure and Medication. *J. Swine Heal. Prod.* **2015**, *23* (6), 321–330.
5. Maes, D.; Segales, J.; Meyns, T.; Sibila, M.; Pieters, M.; Haesebrouck, F. Control of Mycoplasma Hyopneumoniae Infections in Pigs. *Vet. Microbiol.* **2008**, *126* (4), 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.09.008>.
6. Pallarés, F.J.; Lasa, C.; Roozen, M.; Ramis, G. Use of Tylvalosin in the Control of Porcine Enzootic Pneumonia. *Vet. Rec. Open* **2015**, *2* (1). <https://doi.org/10.1136/vetreco-2014-000079>.
7. Fano, E.; Pijoan, C.; Dee, S. Mycoplasma Hyopneumoniae Prevalence at Weaning as a Predictor of the Group's Subsequent Mycoplasma Status. In *Allen D. Leman Swine Conference*; 2005; pp 109–113.
8. EMA. Sales of Veterinary Antimicrobial Agents in 30 European Countries in 2015. EMA/184855/2017. *Seventh ESVAC Rep.* **2017**, 184.
9. Huang, Z.; Hu, Z.; Zheng, H.; Xia, X.; Gu, X.; Shen, X.; Yang, H.; Ding, H. The PK/PD Integration and Resistance of Tilmicosin against Mycoplasma Hyopneumoniae. *Pathogens* **2020**, *9* (6), 487. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060487>.
10. Zhang, X.; Li, H.; Feng, H.; Xiong, H.; Zhang, L.; Song, Y.; Yu, L.; Deng, X. Valnemulin Downregulates Nitric Oxide, Prostaglandin E2, and Cytokine Production via Inhibition of NF-KB and MAPK Activity. *Int. Immunopharmacol.* **2009**, *9* (7–8), 810–816. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2009.02.018>.
11. Nutsch, R.G.; Hart, F.J.; Rooney, K.A.; Weigel, D.J.; Kilgore, W.R.; Skogerboe, T.L. Efficacy of Tulathromycin Injectable Solution for the Treatment of Naturally Occurring Swine Respiratory Disease. *Vet. Ther.* **2005**, *6* (2), 214–224.
12. Rostagno, H.S. *Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais*, 3rd ed.; UFV/DZO, E., Ed.; 2011.
13. SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S. da; SESTI, L.A.C. *Suinocultura Intensiva: Produção, Manejo e Saúde Do Rebanho.*, 1st ed.; Embrapa

Suínos e Aves: Brasília, 1998.

14.Ramirez, A.; Karkiker, L.A. Herd Evaluation. *Dis. Swine* **2019**, 3–16.

<https://doi.org/10.1002/9781119350927.ch1>.

15.Brazil. *Portaria n 711 - Normas Técnicas de Instalações e Equipamentos Para Abate e Industrialização de Suínos*; 1995; p 60,98.

16.PIFFER, I. A.; BRITO, J.R.F. *Descricao de Um Modelo Para Avaliação e Quantificação de Lesões Pulmonares de Suínos e Formulação de Um Índice Para Classificação de Rebanhos*; Embrapa Suínos e Aves: Concórdia-SC, 1991.

17.Brito, J.R.; Piffer, I.A.; Sobestiansky, J.; Brito, M.A. V. Vacinação Com Bordetella Bronchiseptica e Pasteurella Multocida, Associada a Alterações Do Manejo, No Controle Da Rinite Atrófica Dos Suínos. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.* **1993**, 183–191.

18.Davies, P.R.; Bahnson, P.B.; Grass, J.J.; Marsh, W.E.; Dial, G.D. Comparison of Methods for Measurement of Enzoitic Pneumonia Lesions in Pigs. *Am. J. Vet. Res.* **1995**, 56 (6), 09–14.

19.Calsamiglia, M.; Pijoan, C.; Bosch, G.J. Profiling Mycoplasma Hyopneumoniae in Farms Using Serology and a Nested PCR Technique. *J. Swine Heal. Prod.* **1999**, 7(6), 263-268.

20.Kuramae-Izioka, E.E. A Rapid, Easy and High Yield Protocol for Total Genomic DNA Isolation of Colletotrichum Gloeosporioides and Fusarium Oxysporum. *Unimar* **1997**, 13 (3).

21.Birkenheuer, A.J.; Levy, M.G.; Breitschwerdt, E.B. Development and Evaluation of a Seminested PCR for Detection and Differentiation of Babesia Gibsoni (Asian Genotype) and B. Canis DNA in Canine Blood Samples. *J. Clin. Microbiol.* **2003**, 41 (9), 4172–4177. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.9.4172-4177.2003>.

22.Fourour, S.; Fablet, C.; Tocqueville, V.; Dorenlor, V.; Eono, F.; Eveno, E.; Kempf, I.; Marois-Créhan, C. A New Multiplex Real-time TaqMan® PCR for Quantification of Mycoplasma Hyopneumoniae, M. Hyorhinis and M. Flocculare: Exploratory Epidemiological Investigations to Research Mycoplasmal Association in Enzoitic Pneumonia-like Lesions in Slaughtered Pigs. *J. Appl. Microbiol.* **2018**, 125 (2), 345–355. <https://doi.org/10.1111/jam.13770>.

23.Almeida, H.M.S.; Mechler-Dreibi, M.L.; Sonálio, K.; Ferraz, M.E.S.; Storino, G.Y.; Barbosa, F.O.; Maes, D.; Montassier, H.J.; de Oliveira, L.G. Cytokine Expression and Mycoplasma Hyopneumoniae Burden in the Development of Lung Lesions in Experimentally Inoculated Pigs. *Vet. Microbiol.* **2020**, 244, 108647. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108647>.

24.Bustin, S.A.; Benes, V.; Garson, J.A.; Hellemans, J.; Huggett, J.; Kubista, M.; Mueller, R.; Nolan, T.; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.; Vandesompele, J.; Wittwer, C.T. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clin. Chem.* **2009**, 55 (4), 611–622.

<https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>.

25.Ripley, B.D. The R Project in Statistical Computing. MSOR Connections. *MSOR Connect. Newsl. LTSN Maths, Stats OR Netw.* **2001**, 1 (1), 23–25.

26.de Mendiburu, F.; de Mendiburu, M.F. Package ‘Agricolae.’ *R Packag. Version* **2019**, 1–2.

27.Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using Lme4. *arXiv Prepr. arXiv* **2014**, No. 1406.5823.

28.Gelman, A.; Su, Y.-S.; Yajima, M.; Hill, J.; Pittau, M.G.; Kerman, J.; Zheng, T.; Dorie, V. Package ‘Arm.’ *R Top. Doc.* **2020**.

29.Lenth, R.; Lenth, M.R. Package ‘Lsmeans.’ *Am. Stat.* **2018**, 34(4), 216–221.

30.Fox, J. The car Package.

31.Gross, J.; Ligges, U. Package ‘Nortest.’ *Five omnibus tests Test. Compos. hypothesis Norm.* **2015**.

32.Ripley, B.; Venables, B.; Bates, D.M.; Hornik, K.; Gebhardt, A.; Firth, D.; Ripley, M. Package ‘Mass.’ *Cran r* No. 538, 113–120.

33.Wickham, H.; Wickham, M.H. The ggplot package.

34.Pieters, M.; Pijoan, C. Detection Pattern of Mycoplasma Hyopneumoniae DNA in Nasal Swabs. In *Proceedings of the International Pig Veterinary Society Congress; Copenhagen, Denmark, 2006*; p 209.

35.Takeuti, K.L.; de Barcellos, D.E.S.N.; de Lara, A.C.; Kunrath, C.F.; Pieters, M. Detection of Mycoplasma Hyopneumoniae in Naturally Infected Gilts over Time. *Vet. Microbiol.* **2017**, 203, 215–220. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.03.025>.

36.Roozen, M.; Kaptur, R.; Rosener, D.; Marco, E. Recent Experiences with Tylvalosin (Aivlosin®) Intervention for the Eradication of Mycoplasma Hyopneumoniae in Commercial Swine Operations. In *AASV; Dallas, Texas, 2014*; pp 479–480.

37.Fablet, C.; Marois, C.; Kobisch, M.; Madec, F.; Rose, N. Estimation of the Sensitivity of Four Sampling Methods for Mycoplasma Hyopneumoniae Detection in Live Pigs Using a Bayesian Approach. *Vet. Microbiol.* **2010**, 143 (2–4), 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.001>.

38.Fano, E.; Pijoan, C.; Dee, S.; Deen, J. Effect of Mycoplasma Hyopneumoniae Colonization at Weaning on Disease Severity in Growing Pigs. *Can. J. Vet. Res.* **2007**, 71 (3), 195–200.

39.PIETERS, M.; PIJOAN, C.; FANO, E.; DEE, S. An Assessment of the Duration of Mycoplasma Hyopneumoniae Infection in an Experimentally Infected Population of Pigs. *Vet. Microbiol.* **2009**, 134 (3–4), 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.08.016>.

40. Petri, F.A.M.; Sonalio, K.; de Souza Almeida, H.M.; Ferraz, M.E.S.; Storino, G.Y.; de Souza, M.R.; André, M.R.; de Oliveira, L.G. Porcine Hemotropic Mycoplasmas Infection Associated with Productive Impact in Intensive Pig Production. *Porc. Heal. Manag.* **2020**, *6* (1), 4–11. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00171-1>.
41. Wilson, S.; Van Brussel, L.; Saunders, G.; Runnels, P.; Taylor, L.; Fredrickson, D.; Salt, J. Vaccination of Piglets up to 1 Week of Age with a Single-Dose Mycoplasma Hypopneumoniae Vaccine Induces Protective Immunity within 2 Weeks against Virulent Challenge in the Presence of Maternally Derived Antibodies. *Clin. Vaccine Immunol.* **2013**, *20* (5), 720–724. <https://doi.org/10.1128/CVI.00078-13>.
42. Maes, D.; Boyen, F.; Devriendt, B.; Kuhnert, P.; Summerfield, A.; Haesebrouck, F. Perspectives for Improvement of Mycoplasma Hypopneumoniae Vaccines in Pigs. *Vet. Res.* **2021**, *52* (1), 67. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00941-x>.
43. Bandrick, M.; Theis, K.; Molitor, T.W. Maternal Immunity Enhances Mycoplasma Hypopneumoniae Vaccination Induced Cell-Mediated Immune Responses in Piglets. *BMC Vet. Res.* **2014**, *10* (1), 124. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-124>.
44. Zimmermann, P.; Ziesenitz, V.C.; Curtis, N.; Ritz, N. The Immunomodulatory Effects of Macrolides—A Systematic Review of the Underlying Mechanisms. *Front. Immunol.* **2018**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00302>.
45. Nau, R.; Sörgel, F.; Eiffert, H. Penetration of Drugs through the Blood-Cerebrospinal Fluid/Blood-Brain Barrier for Treatment of Central Nervous System Infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2010**, *23* (4), 858–883. <https://doi.org/10.1128/CMR.00007-10>.
46. DeRosa, D.C.; Veenhuizen, M.F.; Bade, D.J.; Shryock, T.R. In Vitro Susceptibility of Porcine Respiratory Pathogens to Tilmicosin. *J. Vet. Diagnostic Investig.* **2000**, *12* (6), 541–546. <https://doi.org/10.1177/104063870001200608>.
47. Giguère, S.; Prescott, J.F.; Dowling, P.M. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*; Ed. Wiley Blackwell: Atlanta, USA, 2013.
48. EMEA European Medicines Agency. *Veterinary Medicines and Inspections. Valnemulin – Summary Report, EMEA/MRL/339/98-FINAL*. May, 1998.
49. Spinosa, H.S.; Gorniak, S.L.; Bernardi, M.M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*; Editora Guanabara Koogan, 2011.
50. Hirose, F.; Neto, J.S. Utilização de Medicação via Água de Bebida Na Suinocultura: Aspectos Práticos e Econômicos. Simpósio Brasil Sul de Suinocultura. In *Anais do V Simpósio Brasil Sul de Suinocultura e do IV Brasil Sul Pig Fair, 14 a 16 de agosto de 2012*; Embrapa Suínos e Aves: Concórdia, SC, 2012.