



Uema
UNIVERSIDADE ESTADUAL
DO MARANHÃO



PPGCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA ANIMAL

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DISSERTAÇÃO

Ana Isabela Lima Ribeiro

**DETECÇÃO MOLECULAR DE AGENTES DO COMPLEXO DE DOENÇAS
RESPIRATÓRIAS EM SUÍNOS ABATIDOS NA ILHA DO MARANHÃO**

São Luís - 2026



DETECÇÃO MOLECULAR DE AGENTES DO COMPLEXO DE DOENÇAS RESPIRATÓRIAS EM SUÍNOS ABATIDOS NA ILHA DO MARANHÃO

Aluno: Ana Isabela Lima Ribeiro

Orientadora: Profa. Dra. Larissa Sarmiento dos Santos Ribeiro

Trabalho de dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA/UEMA), como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.



Ribeiro, Ana Isabela Lima.

Detecção molecular de agentes do Complexo de Doenças Respiratórias em suínos abatidos na Ilha do Maranhão. / Ana Isabela Lima Ribeiro. - São Luís - MA, 2026.

56 f.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2026.

Orientadora: Profa. Dra. Larissa Sarmiento dos Santos Ribeiro.

1. Afecções respiratórias. 2. Doenças virais. 3. Produção animal. I. Título.

CDU: 636.4(812.1)

Elaborado por Luciana de Araújo - CRB 13/445


FOLHA DE APROVAÇÃO

ANA ISABELA LIMA RIBEIRO


DETECÇÃO MOLECULAR DE AGENTES DO COMPLEXO DE DOENÇAS RESPIRATÓRIAS EM SUÍNOS ABATIDOS NA ILHA DO MARANHÃO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA/UEMA), como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal


Aprovada em: 10 de fevereiro de 2026

Documento assinado digitalmente
 **LARISSA SARMENTO DOS SANTOS RIBEIRO**
Data: 06/04/2026 14:56:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª. Dra. Larissa Sarmento dos Santos Ribeiro
Orientadora/Universidade Estadual do Maranhão

Documento assinado digitalmente
 **CARLA JANAINA REBOUCAS MARQUES DO ROS,**
Data: 06/04/2026 19:00:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª. Dra. Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário
1º Membro/Examinador interno
Universidade Estadual do Maranhão

Documento assinado digitalmente
 **VIVIANE CORREA SILVA COIMBRA**
Data: 07/04/2026 10:32:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª. Dra. Viviane Correa Silva Coimbra
2º Membro/Examinador externo
Universidade Estadual do Maranhão

São Luís – MA
2026

AGRADECIMENTOS

À minha avó, rocha que me mantém firme em meio às turbulências da vida. Ao meu avô que, mesmo de longe, está comigo e em vida me apontou o caminho e deu exemplo a ser trilhado no mundo.

Aos meus pais que a cada vitória eu tive a alegria de ver os olhos brilhando com um sorriso.

À minha irmã por estender a mão e sempre me lembrar de que está por perto.

À minha orientadora, pela confiança, por acreditar e sempre apoiar os projetos em que a vida profissional me levou. Sou grata por todo o acolhimento ao longo dessa trajetória.

A toda equipe do Laboratório de Micologia (LaMiv) e do Laboratório de Patologia Molecular (LPMol) da Universidade Estadual do Maranhão, pois não há pesquisa sem uma rede de apoio.

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro que tem possibilitado a continuidade desta pesquisa.

DETECÇÃO MOLECULAR DE AGENTES DO COMPLEXO DE DOENÇAS RESPIRATÓRIAS EM SUÍNOS ABATIDOS NA ILHA DO MARANHÃO

RESUMO - A suinocultura é um setor da agropecuária de expressivo crescimento. Entretanto, as doenças respiratórias bacterianas e virais apresentam um importante problema sanitário, com impacto direto sobre os ganhos econômicos da atividade. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar a ocorrência de agentes do complexo de doenças respiratórias de suínos (CDRS) em suínos submetidos ao abate na Ilha do Maranhão - MA. Foram utilizadas 150 amostras de pulmão de suínos, coletadas entre os anos de 2019 a 2021, provenientes de distintos locais da Ilha do Maranhão, sendo: um abatedouro certificado pelo Sistema de Inspeção Estadual (65 amostras) e 6 pontos de abate sem inspeção (85 amostras), previamente analisadas para *Mycoplasma hyopneumoniae*, com 44 amostras sabidamente positivas. Foi realizada extração de DNA, com o kit comercial Wizard Genomic DNA Purification (Promega®) e realizada análise para a presença dos agentes Circovírus Tipo 2 (PCV2) através da técnica de qPCR e *Actinobacillus pleuropneumoniae* e *Glaesserella parasuis* através de cPCR. PCV2 foi detectado em 66,95% (n = 81) das amostras, *G. parasuis* em 4,9% (n = 6) e nenhuma amostra positiva para *A. pleuropneumoniae*. Em 35,8% (n = 48) foi possível identificar a presença de coinfeção entre PCV2 e *M. hyopneumoniae*. Em 2,4% (n = 3) foi possível detectar a presença de PCV2 e *G. parasuis*. Somente uma amostra apresentou coinfeção para *G. parasuis* e *M. hyopneumoniae*, assim como somente uma para coinfeção para os 3 patógenos (PCV2 – *M. hyopneumoniae* – *G. parasuis*). Os resultados deste trabalho evidenciaram a presença de dois agentes etiológicos do complexo das doenças respiratórias dos suínos, PCV2 e *G. parasuis*, além de apresentar coinfeção com *M. hyopneumoniae*. A alta taxa de positividade para PCV2 indica a presença deste agente disseminado em animais abatidos na Ilha do Maranhão. Entretanto, devido a alta movimentação clandestina de animais no estado, não se pode descartar a presença deste agente em mais municípios, de maneira assintomática, o que reforça a importância do diagnóstico epidemiológico. Compreender a dinâmica de disseminação e permanência do patógenos nos rebanhos é determinante para redução dos impactos econômicos dos agravos respiratórios na suinocultura.

Palavras-chave: afecções respiratórias; doenças virais; produção animal.

MOLECULAR DETECTION OF PATHOGENS ASSOCIATED WITH THE SWINE RESPIRATORY DISEASE COMPLEX IN SLAUGHTERED PIGS FROM MARANHÃO ISLAND

ABSTRACT - Swine farming represents a sector of agribusiness with significant growth. However, bacterial and viral respiratory diseases pose a major sanitary challenge, directly impacting the economic gains of the activity. Thus, this study aimed to evaluate the occurrence of agents associated with the porcine respiratory disease complex (PRDC) in pigs slaughtered on Maranhão Island, Maranhão state, Brazil. A total of 150 lung samples from pigs, collected between 2019 and 2021 from various locations on the island—comprising one abattoir certified by the State Inspection System (65 samples) and six non-inspected slaughter points (85 samples)—were analyzed. These samples had been previously tested for *Mycoplasma hyopneumoniae*, with 44 confirmed positives. DNA extraction was performed using the Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega®), followed by detection of porcine circovirus type 2 (PCV2) via qPCR, and *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Glaesserella parasuis* via conventional PCR (cPCR). PCV2 was detected in 66.95% (n = 81) of samples, *G. parasuis* in 4.9% (n = 6), and no samples were positive for *A. pleuropneumoniae*. Coinfection between PCV2 and *M. hyopneumoniae* was identified in 35.8% (n = 48) of samples, while PCV2 and *G. parasuis* coinfection occurred in 2.4% (n = 3). Only one sample showed coinfection with *G. parasuis* and *M. hyopneumoniae*, and one exhibited coinfection with all three pathogens (PCV2–*M. hyopneumoniae*–*G. parasuis*). These findings confirm the presence of two etiological agents of the porcine respiratory disease complex, PCV2 and *G. parasuis*, alongside coinfections with *M. hyopneumoniae*. The high PCV2 positivity rate indicates widespread dissemination of this agent among slaughtered animals on Maranhão Island. Nevertheless, given the extensive clandestine animal movement in the state, its asymptomatic presence in additional municipalities cannot be ruled out, underscoring the critical need for epidemiological diagnostics. Understanding the dynamics of pathogen dissemination and persistence in herds is essential for mitigating the economic impacts of respiratory diseases in swine production.

Keywords: respiratory disorders; viral diseases; animal production.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 8 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA..... | 11 |
| 2.1 Introdução ao Complexo das Doenças Respiratórias em Suínos..... | 11 |
| 2.1.1 <i>Fatores predisponentes e de prevenção para doenças respiratórias no rebanho suíno</i> | 11 |
| 2.2 Principais Agentes do Complexo Respiratório Suíno | 13 |
| 2.2.1 <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> | 13 |
| 2.2.1.1 Patogênese e virulência..... | 14 |
| 2.2.1.2 Sinais clínicos | 15 |
| 2.2.2 <i>Vírus da Síndrome Reprodutiva e Respiratória dos Suínos (PRRSV)</i> | 15 |
| 2.2.2.1 Patogênese e virulência..... | 16 |
| 2.2.2.2 Sinais clínicos | 16 |
| 2.2.3 <i>Circovírus Suíno</i> | 17 |
| 2.2.3.1 Patogênese e virulência..... | 17 |
| 2.2.3.1 Sinais clínicos | 18 |
| 2.2.4 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> | 19 |
| 2.2.4.1 Patogênese e virulência..... | 19 |
| 2.2.4.2 Sinais clínicos | 20 |
| 2.2.6 <i>Glaesserella (Haemophilus) parasuis</i> | 21 |
| 2.2.6.1 Patogênese e virulência..... | 21 |
| 2.2.6.2 Sinais clínicos | 22 |
| 2.4 Panorama da Suinocultura no Maranhão e na Ilha do Maranhão | 23 |
| 3 OBJETIVOS..... | 28 |
| 3.1 Objetivo geral | 28 |
| 3.2 Objetivos específicos | 28 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 29 |
| 4.1 Origem das amostras | 29 |
| 4.2 Análise molecular | 30 |
| 4.2.1 <i>Extração de DNA</i> | 30 |
| 4.2.2 <i>Reação em cadeia da polimerase (PCR) para gene endógeno</i> | 30 |
| 4.2.3 <i>PCR para agentes do Complexo Respiratório dos Suínos</i> | 30 |



| | |
|---|-----------|
| 4.2.3.1 PCR em tempo real quantitativa (qPCR) para PCV2 | 30 |
| 4.2.3.2 PCR convencional para análise filogenética para Circovirus Tipo 2 | 31 |
| 4.2.3.3 PCR convencional para <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> e <i>Glaesserella parasuis</i> | 32 |
| 4.3 Análise estatística | 33 |
| 5 RESULTADOS | 34 |
| 5.1 Detecção e análise filogenética de PCV2 (qPCR)..... | 34 |
| 5.2 Detecção de <i>A. pleuropneumoniae</i> e <i>G. parasuis</i> (cPCR)..... | 36 |
| 5.3 Coinfecções identificadas..... | 36 |
| 5.4 Avaliação nas categorias de abate | 37 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 39 |
| 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 44 |
| REFERÊNCIAS..... | 45 |

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura destaca-se como uma das principais atividades produtivas do setor de carnes no mundo, e o Brasil ocupa posição de destaque nesse cenário (Roppa; Duarte; Kim, 2024; Kim *et al.*, 2024). Atualmente, o país é o terceiro maior produtor global de carne suína (IBGE 2025), sendo um representante expressivo da América Latina. No mundo, é o 3º maior rebanho, atrás apenas da China e dos Estados Unidos (Roppa; Duarte; Kim, 2024).

Quando se trata do estado do Maranhão, este ocupa a 12º posição entre os produtores do Brasil, sendo a espécie suína a terceira mais populosa do estado (Silva *et al.*, 2023), sendo provenientes majoritariamente de criações de agricultura familiar (Santos *et al.*, 2020). com uma movimentação expressiva de animais na região da Ilha do Maranhão para abate e consumo de carne (Neta *et al.*, 2020).

O desenvolvimento desta atividade agropecuária está alinhado com o avanço tecnológico e a intensificação dos sistemas de produção, que possibilitaram o aumento da densidade animal e da eficiência produtiva. Entretanto, essas mudanças também ampliaram os riscos sanitários, favorecendo a disseminação de doenças infecciosas (Alarcón; Allepuz; Mateu, 2021). Entre as enfermidades de maior impacto, as doenças respiratórias representam um desafio significativo à produção. De etiologia multifatorial, essas afecções podem envolver agentes bacterianos e virais atuando de forma isolada ou associada, o que dificulta o diagnóstico e o controle (Opriessnig; Giménez-Lirola; Halbur, 2011).

Nesse cenário, destaca-se o complexo de doenças respiratórias dos suínos - CDRS caracterizado como uma síndrome multifatorial, resultante da interação de diferentes agentes infecciosos e fatores ambientais, como ventilação inadequada, variações térmicas e alta densidade populacional (Stärk, 2000; Ruggeri *et al.*, 2020). Os agentes etiológicos do complexo são classificados em primários e secundários, de acordo com sua relevância no estabelecimento da doença (Saade *et al.*, 2020).

O principal agente primário associado ao CDRS é a bactéria *Mycoplasma hyopneumoniae*, responsável pela pneumonia enzoótica dos suínos (Maes *et al.*, 2018). Essa bactéria realiza adesão à superfície epitelial, causando degeneração progressiva no tecido respiratório, tornando os indivíduos suscetíveis à ocorrência de infecções secundárias devido ao comprometimento da barreira mecânica de defesa do organismo (Maes *et al.*, 2021; Thacker, 2001).

Entretanto, a coinfeção entre diferentes microrganismos é frequente e pode potencializar a gravidade clínica, a disseminação e as perdas econômicas associadas. Dentre os patógenos comumente envolvidos nessas interações, incluem-se *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Glaesserella (Haemophilus) parasuis* e o Circovírus Suíno Tipo 2 (PCV2), considerado atualmente um dos agentes primários emergentes do complexo. Estes agentes estão presentes como patógenos endêmicos, emergentes e oportunistas e possuem papéis importantes no panorama do CDRS (Maity *et al.*, 2023; Opriessnig; Giménez-Lirola; Halbur, 2011).

Os efeitos das coinfeções dependem da natureza das interações que influenciam a resposta imune do hospedeiro e o desfecho clínico (Saade *et al.*, 2020). Entre as principais interações entre os patógenos, a infecção de *M. hyopneumoniae* com agentes virais, como PCV2, tende a um aumento da viremia nos animais acometidos, com agravamento das lesões virais, principalmente pela depleção do sistema imune dos hospedeiros (Lunney *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2013).

Apesar da identificação dos agentes circulantes e de suas coinfeções ser essencial para o aprimoramento das medidas de vigilância e controle, no Maranhão, há uma lacuna nos estudos sobre a presença de agentes respiratórios na suinocultura em infecções simultâneas. Esse aspecto pouco estudado se torna ainda mais evidente quando se trata de suínos abatidos de maneira clandestina, em locais sem fiscalização e inspeção sanitária.

Um estudo recente identificou *M. hyopneumoniae* em 36,36% das amostras de pulmão de suínos abatidos em São Luís, confirmando a circulação do principal agente primário do complexo respiratório (Rodrigues *et al.*, 2023). Contudo, não há registros sobre a presença concomitante de outros patógenos bacterianos ou virais em animais abatidos na região. Nesta pesquisa, utilizou-se as mesmas amostras avaliadas por Rodrigues *et al.*, (2023) para *M. hyopneumoniae* a fim de verificar a presença dos demais agentes da CDRS.

Nesse contexto, o uso de ferramentas de diagnóstico molecular na avaliação do cenário epidemiológico desses patógenos é uma estratégia para que se possa realizar uma abordagem de alta sensibilidade na detecção desses agentes. Sendo assim, são abordagens diagnósticas que permitem a identificação dos patógenos, mesmo em animais assintomáticos, uma vez que se investiga a presença do material genético (Gomes-Gonçalves *et al.*, 2025; Zadoks; Schukken, 2006).

O manejo de biossegurança nas criações agropecuárias está diretamente relacionado com a circulação e alta morbidade de infecções respiratórias (Assavacheep; Thanawongnuweck, 2022). No Maranhão, a maior parcela das criações é proveniente de

sistemas de criações familiares, onde os níveis de biossegurança são menos expressivos (Santos *et al.*, 2020), o qual adota como principal modalidade de abate o não inspecionado, com ausência de acompanhamento técnico para avaliação de lesões *post-mortem* (Rocha; Otatti; Campos, 2018).

Assim, considerando a importância econômica da suinocultura, os impactos produtivos e sanitários associados às doenças respiratórias, e o caráter de notificação compulsória de circovirose suína conforme a instrução normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013 - MAPA, justifica-se o presente estudo para pesquisa de Circovírus Suíno Tipo 2, *A. pleuropneumoniae* e *Glaesserella parasuis*. A pesquisa propõe avaliar a presença de agentes do Complexo de Doenças Respiratórias de Suínos (CDRS) em suínos submetidos ao abate na Ilha do Maranhão – MA.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Introdução ao Complexo das Doenças Respiratórias em Suínos

O complexo de doenças respiratórias dos suínos - CDRS é uma síndrome que acomete rebanhos na suinocultura a nível mundial (Ruggeri *et al.*, 2020). Sua etiologia é múltipla, podendo ocorrer por um conjunto de patógenos primários e secundários, em diferentes combinações, além da influência de fatores ambientais que podem interferir no sistema imunológico dos animais (Saade *et al.*, 2020; Stärk, 2000).

Como principal agente primário, a bactéria *Mycoplasma hyopneumoniae* é um dos mais importantes representantes da casuística desta enfermidade – sendo este também o agente da pneumonia enzoótica suína (PES) (Maes *et al.*, 2018). Outro patógeno de grande importância também classificado neste primeiro grupo é o Vírus da Síndrome Reprodutiva e Respiratória dos Suínos (PRRSV). Cosmopolita, este vírus já foi registrado em diferentes rebanhos da suinocultura mundial, porém nunca foi notificado no Brasil (Fang *et al.*, 2022; BRASIL, 2013; Massa *et al.*, 2014).

Como patógeno primário emergente, outro agente viral também se destaca nas ocorrências de CDRS, o Circovírus Suíno Tipo 2 (PCV2) – agente da síndrome multissistêmica do definhamento dos suínos (SMDS). Esse vírus está associado a perdas econômicas relevantes na suinocultura. A expressão clínica e a magnitude dos surtos variam conforme coinfeções, status vacinal, manejo e condições ambientais; em sistemas com biossegurança deficiente, a morbidade e a gravidade tendem a aumentar. Além disso, seu efeito sinérgico na presença de coinfeções com outros patógenos é um fator que contribui para o agravamento das infecções clínicas (Burrai *et al.*, 2023; Chae, 2016).

Dos demais agentes de importância clínica no CDRS, podem ser citadas as bactérias *Actinobacillus pleuropneumoniae* e *Glaesserella (Haemophilus) parasuis*. Agentes comumente secundários e que desenvolvem doença clínica de maneira oportunista nos suínos (Opriessnig; Giménez-Lirola; Halbur, 2011). Dessa maneira, o CDRS caracteriza-se pela associação de diversos patógenos virais e bacterianos (Salogni *et al.*, 2020; Ruggeri *et al.*, 2020), cujas combinações determinam distintos padrões de coinfeção e gravidade clínica (Saade *et al.*, 2020).

2.1.1 Fatores predisponentes e de prevenção para doenças respiratórias no rebanho suíno

As doenças infecciosas respiratórias causam grandes prejuízos à cadeia produtiva da suinocultura, devido aos gastos com medicamentos, retardo no desenvolvimento dos animais e aumento da mortalidade e das condenações de carcaças (Burrai *et al.*, 2023). Aspectos relacionados à biosseguridade dentro dos sistemas de produção estão diretamente relacionados com a circulação e alta morbidade de infecções respiratórias, principalmente quando se trata do complexo de doenças respiratórias dos suínos (Assavacheep; Thanawongnuweck, 2022).

Ainda assim, observa-se no Brasil a ocorrência dessas enfermidades tanto em rebanhos comerciais quanto em criações de subsistência (Lima *et al.*, 2024), indicando que fatores adicionais, como coinfeções e condições ambientais, também contribuem para a manutenção do complexo respiratório (Arenales *et al.*, 2022). Este cenário de coinfeções chama atenção uma vez que os aspectos sinérgicos, tanto de agentes endêmicos quanto de emergentes, podem intensificar as lesões e sinais clínicos nos animais, de uma maneira exacerbada quando comparado com infecções únicas (Burrai *et al.*, 2023).

No Estado do Maranhão, as criações de suínos em sua maioria são classificadas como criações de subsistência (78,42%), onde apresentam baixos níveis de biosseguridade e baixo uso de tecnologias produtivas (Saraiva *et al.*, 2022). No município de São Luís, Rodrigues *et al.* (2023) identificaram a presença de *M. hyopneumoniae* em suínos abatidos por meio de ferramenta de biologia molecular. Porém, o panorama acerca dos demais agentes associados a esse agravo ainda não foi detalhado.

As doenças respiratórias na suinocultura estão associadas a múltiplos fatores, e as medidas de controle se baseiam em medidas semelhantes, mesmo quando diferentes agentes etiológicos estão envolvidos. No complexo respiratório dos suínos, a ocorrência de animais positivos está fortemente ligada ao manejo sanitário adotado nas propriedades, uma vez que falhas na biosseguridade favorecem a circulação dos agentes e elevam a morbidade das infecções respiratórias (Assavacheep; Thanawongnuweck, 2022). Dessa forma, as principais estratégias de prevenção baseiam-se em medidas de manejo e na adequação das estruturas físicas das criações (De Miranda; Da Silva, 2023).

Como característica geral, a suinocultura moderna caracteriza-se por um processo de intensificação produtiva que resulta em maior confinamento e interação entre os animais. Essa proximidade favorece o contato direto e indireto entre indivíduos, o que contribui para disseminação de agentes patogênicos (Alarcón; Allepuz; Mateu, 2021). Diante disso, torna-se essencial o controle de fatores como densidade de animais, dimensionamento adequado das baias, segregação por faixa etária, temperatura, ventilação e manejo de bem-estar (De

Miranda; Da Silva, 2023). Em granjas de maior tecnificação, a adoção do sistema *all-in-all-out* possibilita um fluxo de manejo mais seguro, reduzindo o risco de transmissão entre lotes e proporcionando maior controle sanitário (Alarcón; Allepuz; Mateu, 2021; Maes *et al.*, 2008).

Outro aspecto relevante refere-se à localização da granja e à densidade de rebanhos na região. Áreas com alta concentração de suínos favorecem a propagação de enfermidades respiratórias, especialmente as transmitidas por aerossóis. Como medida de controle ambiental, o plantio de árvores ao redor das instalações cria cinturões verdes que funcionam como barreiras naturais, diminuindo a propagação de aerossóis contaminantes (De Miranda; Da Silva, 2023).

A idade é um fator determinante na suscetibilidade às doenças respiratórias em suínos. Por essa razão, a separação dos lotes por categorias é necessária para evitar o contato de animais com diferentes níveis de resposta imunológica. Indivíduos em fase de recria e terminação são os mais suscetíveis aos patógenos respiratórios, pois apresentam menor concentração sérica de anticorpos específicos e enfrentam maior carga de patógenos, enquanto leitões mais jovens ainda mantêm proteção passiva adquirida pelo colostro (Maes *et al.*, 2008, De Miranda; Da Silva, 2023). O contato entre diferentes categorias de faixas de idade constitui um dos principais fatores associados ao aumento de surtos, uma vez que o estresse resultante do convívio entre animais em diferentes estágios de desenvolvimento compromete a imunidade e favorece a instalação de infecções (Alarcón; Allepuz; Mateu, 2021).

Outro aspecto relevante para propagação de enfermidades respiratórias é a introdução de novos animais no rebanho. Fêmeas nulíparas provenientes de sistemas com elevado padrão sanitário, ao serem inseridas em rebanhos com status inferior, podem representar um importante fator de risco, uma vez que não tiveram contato prévio com agentes presentes naquele ambiente. Nessas condições, é comum a ocorrência de infecções agudas após o contato com portadores crônicos, além de possíveis falhas na transferência de imunidade passiva aos leitões devido à menor concentração de anticorpos no colostro (Alarcón; Allepuz; Mateu, 2021; De Miranda; Da Silva, 2023).

2.2 Principais Agentes do Complexo Respiratório Suíno

2.2.1 Mycoplasma hyopneumoniae

M. hyopneumoniae é considerada o agente etiológico principal da pneumonia enzoótica suína (PES), além de principal patógeno envolvido no Complexo Respiratório dos Suínos. Esse agente é responsável por significativas perdas econômicas, uma vez que impacta diretamente no desenvolvimento dos animais na produção (Fano *et al.*, 2007; Malcher *et al.*, 2024). Essa bactéria pertence à família Mycoplasmataceae, de tamanho entre 0,3 a 0,9 µm de diâmetro, é capaz de autorreplicação independente. Seu isolamento em meios de cultura é dificultado devido ao seu crescimento fastidioso (Betlach *et al.*, 2019; Razin; Yogeve; Naot, 1998).

Apesar da baixa mortalidade dos animais acometidos por PES, os rebanhos que apresentam a ocorrência desse agente destacam-se pela alta morbidade. Os sinais clínicos comumente são percebidos pela redução do ganho de peso, aumento do tempo para abate devido ao crescimento limitado dos animais, estimando-se uma redução na taxa de crescimento de 6-16%. Além disso, é comum a presença de tosse seca de intensidade variada nos animais acometidos (Rautiainen *et al.*, 2000).

A transmissão ocorre principalmente através do contato direto com as secreções respiratórias dos animais doentes (Maes *et al.*, 2018). Entretanto, o contato via aerossóis ou fômites também pode contribuir para a transmissão da bactéria de maneira indireta (Nathues *et al.*, 2012; Stark; Nicolet; Frey, 1998). *M. hyopneumoniae* é um agente cosmopolita, amplamente distribuído em rebanhos suínos no Brasil e em diversos países (Balestrin *et al.*, 2022; De Souza *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2024; Sosa *et al.*, 2019). Devido à elevada taxa de morbidade, os surtos podem acometer parte ou até a totalidade dos animais de um plantel (Balestrin *et al.*, 2022; Rodrigues *et al.*, 2023; Tamiozzo *et al.*, 2011; Vicente *et al.*, 2013).

2.2.1.1 Patogênese e virulência

M. hyopneumoniae apresenta marcado tropismo pelo epitélio do trato respiratório, especialmente pelas células ciliadas da mucosa traqueobrônquica. Durante a colonização, a bactéria adere à superfície epitelial e induz a degeneração progressiva do tecido ciliar, comprometendo a depuração mucociliar – principal barreira mecânica de defesa do hospedeiro. Essa disfunção favorece a colonização por agentes oportunistas e explica a elevada ocorrência de infecções secundárias observadas nos animais acometidos (Maes *et al.*, 2021; Thacker, 2001).

A infecção inicia-se após a inalação de partículas contaminadas presentes em aerossóis ou fômites. O estabelecimento bacteriano depende da adesão mediada por proteínas de superfície, denominadas adesinas, que interagem com receptores das células

epiteliais do hospedeiro. Essas moléculas apresentam uma ampla variabilidade, contribuindo para a capacidade de colonização e persistência do patógeno (Leal Zimmer *et al.*, 2020). A multiplicação bacteriana, associada à resposta inflamatória local, resulta em ciliostase, perda dos cílios e indução da morte celular, que está relacionado com as características de lesão encontradas na PES (Debey; Ross, 1994; Maes *et al.*, 2021).

2.2.1.2 Sinais clínicos

Os sinais clínicos da PES são de evolução crônica e, frequentemente, passam despercebidos pelo produtor, na forma assintomática. O agente é detectado com maior frequência em suínos na fase de terminação, quando a bactéria circula amplamente no rebanho e os animais já estão inseridos no ciclo produtivo (Ruggeri *et al.*, 2020).

O processo patogênico, caracterizado pela destruição ciliar e inflamação do trato respiratório, resulta em broncopneumonia crônica catarral (Hillen *et al.*, 2014). Em animais abatidos, observa-se lesões compatíveis com pleurisia e pleuropneumonia, geralmente localizadas na região cranioventral dos pulmões, com coloração variando de púrpura a cinza (Ferreira, M. *et al.*, 2021; Ruggeri *et al.*, 2020).

Os quadros clínicos mais severos estão associados à intensa multiplicação bacteriana no trato respiratório e à formação de biofilmes, que dificultam a depuração mucociliar e favorecem a persistência do agente. Esses casos frequentemente se complicam por infecções secundárias, uma vez que a lesão tecidual facilita a colonização por patógenos oportunistas (Furlong; Turner, 1975; Wu *et al.*, 2022).

2.2.2 Vírus da Síndrome Reprodutiva e Respiratória dos Suínos (PRRSV)

O vírus da síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos (PRRSV) é o agente etiológico da síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos (porcine reproductive and respiratory syndrome - PRRS) e um dos agentes primários do CDRS. Este agente viral apresenta um tamanho médio de ~15kb de comprimento, de estrutura envelopada, com material genético de RNA de fita simples, pertencente à ordem Nidoviridales, família Arteriviridae (Benfield *et al.*, 1992; Dokland, 2010).

Esse vírus é detectado em suínos de diferentes regiões do mundo, sendo amplamente encontrado nos maiores rebanhos da suinocultura mundial, nos Estados Unidos e na China (Fang *et al.*, 2022; Neumann *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2022). Entretanto, até o momento não

há evidências científicas de sua presença no Brasil, sendo este agente classificado de notificação compulsória pela legislação brasileira (BRASIL, 2013; Massa *et al.*, 2014). Portanto, não foi alvo de pesquisa neste trabalho.

Os seus efeitos nos rebanhos provocam quedas significativas na produção, gerando impactos econômicos importantes na atividade (Fang *et al.*, 2022; Neumann *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2022). A transmissão do vírus pode ocorrer pelo contato direto com suínos infectados e suscetíveis, ou indiretamente através de fômites. O agente também é eliminado em secreções e excreções, como saliva, urina, fezes e sêmen, contribuindo para a disseminação no rebanho (Lunney *et al.*, 2016; Massa *et al.*, 2014).

2.2.2.1 Patogênese e virulência

Após o contato com os vírions, o PRRSV penetra no organismo e apresenta tropismo preferencial por macrófagos alveolares e do tecido intravascular pulmonar, que atuam como principais células-alvo para replicação viral (Thacker, 2001). A replicação viral nesses tipos celulares promove lise celular, além de ocasionar uma queda de função nas demais células do tecido. Dessa forma, seu mecanismo de ação compromete a resposta inata e adaptativa do hospedeiro, favorecendo a ocorrência de infecções secundárias e coinfeções com outros agentes respiratórios (An *et al.*, 2020; Lunney *et al.*, 2016).

2.2.2.2 Sinais clínicos

Os sinais típicos da infecção pelo PRRSV são as afecções respiratórias moderadas a grave em suínos jovens e falhas reprodutivas em marrãs. Entretanto, tanto a variedade de sinais quanto a intensidade nos animais podem alterar de acordo com a cepa viral envolvida no processo infeccioso e a resposta imune do hospedeiro (Lunney *et al.*, 2016).

No quadro respiratório, observa-se a detecção deste agente tanto em animais na fase de creche quanto na fase de terminação. Entre as principais lesões histológicas, observam-se alterações no tecido pulmonar e na serosa, com quadros de pleurisia e broncopneumonia intersticial (Ruggeri *et al.*, 2020).

Como agente primário da CDRS, PRRSV pode aumentar as taxas de complicação das infecções secundárias, sendo capaz de aumentar a severidade e duração de pneumonias por *M. hyopneumoniae*, exacerbar infecções por *Bordetella bronchiseptica* e ser um potencializador das lesões teciduais causadas pelo PCV2 (Chae, 2016; Opriessnig; Giménez-Lirolaa; Halbur, 2011; Thacker *et al.*, 1999).

2.2.3 Circovírus Suíno

O circovírus suíno (PCV) pertence a família Circoviridae, sendo um dos menores vírus dos animais. Sua estrutura é de um vírus não-envelopado, icosaédrico, de fita simples de DNA circular, tendo sido descrito pela primeira vez em 1974 (Tischer *et al.*, 1974 apud Opriessnig *et al.*, 2020; Tischer *et al.*, 1982 apud Opriessnig *et al.*, 2020). Atualmente, quatro tipos de PCV são reconhecidos, sendo respectivamente PCV1, PCV2, PCV3 e PCV4, sendo diferenciados principalmente pela composição da região codificante ORF2 do genoma que compõe o capsídeo viral (Gao *et al.*, 2024; Opriessnig *et al.*, 2020).

PCV1 é classificado como não-patogênico, não sendo associado a doenças tanto em observação natural quanto em testes experimentais (Tischer *et al.*, 1986). Por outro lado, os demais tipos desse vírus são associados a processos patológicos nos suínos, sendo PCV2 o mais estudado e com os mecanismos mais compreendidos até o momento (Gao *et al.*, 2024). Este é o agente etiológico da síndrome multissistêmica do definhamento suíno (SMDS), sendo descrito como uma variante do primeiro vírus identificado (Nayar; Hamel; Lin, 1997), marcada principalmente pela imunossupressão e a presença de lesões em diversos tecidos (Fehér; Jakab; Bányai, 2023). PCV3 e PCV4 são as últimas variantes descritas, sendo o tipo 4 ainda sem descrição exata do seu papel em processos patogênicos nos suínos (Gao *et al.*, 2024; Phan *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2020).

2.2.3.1 Patogênese e virulência

Os circovírus patogênicos apresentam tropismo preferencial pelo tecido linfóide dos suínos. A replicação viral nesses órgãos resulta em destruição dos linfonodos e imunossupressão dos animais infectados, favorecendo a multiplicação de patógenos secundários e oportunistas (Ramamoorthy; Meng, 2009).

A entrada do vírus nas células do hospedeiro ocorre por duas diferentes vias de acordo com o tipo celular: I) células monocíticas e dendríticas - processo de endocitose mediado pela proteína de membrana clatrina; II) células epiteliais - internalização regulado por caveolina e GTPases independentes de dinamina, que são proteínas citosólicas, ou também através da proteína clatrina (Nauwynck *et al.*, 2012; Dhindwal *et al.*, 2019). A segunda via é comumente relacionada ao desenvolvimento de infecção nos tecidos renais e testiculares dos suínos (Dhindwal *et al.*, 2019).

A multiplicação viral ocorre no núcleo da célula hospedeira, através da exposição do material genético viral que usa o maquinário nuclear hospedeiro para síntese de suas proteínas virais que servirão para montagem de novos vírions (Nauwynck *et al.*, 2012). Os principais alvos de replicação são os linfonodos bronquiais, inguinais, tonsilas, tecido pulmonar, rins, baço e timo (Darwich; Mateu, 2012; Ramamoorthy; Meng, 2009).

Em seu mecanismo de ação, PCV2 é capaz de realizar a modulação do sistema imunológico, com alteração de células importantes do sistema imune, como macrófagos e células dendríticas. A interação das partículas virais com o tecido estimula a liberação de citocinas, como interleucina 10 (IL-10), IL-1 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), além de outras citocinas pró-inflamatórias que contribuem diretamente para a progressão da lesão tecidual causada pelo agente (Meng, 2013; Ramamoorthy; Meng, 2009).

Outro fator importante a ser levado em conta em relação ao PCV2 é sua variabilidade genética. Atualmente, estão classificados nove genótipos diferentes para PCV2 (a - i), os quais possuem determinantes genéticos ligados à composição do genoma (Franzo; Segalés, 2018; Wang *et al.*, 2020). PCV2a, PCV2b e PCV2d são genótipos considerados mais virulentos em infecções únicas. Por outro lado, PCV2d destaca-se em modelos de coinfeção como sendo o mais agravante, principalmente quando avaliado na presença de *M. hyopneumoniae* e PRRSV (Oh *et al.*, 2022; Suh; Oh; Chae, 2023). Esse fator se explica pelas diferenças genéticas da região ORF2 do genoma viral, responsável por codificar a proteína *cap* do capsídeo, sendo esta a principal proteína imunogênica. Dessa forma, alterações nessa região do genoma modificam os níveis de virulência do circovírus suíno (Suh; Oh; Chae, 2023).

2.2.3.1 Sinais clínicos

Os animais infectados por PCV2 podem apresentar a doença de maneira subclínica, sem a presença de sinais clínicos aparentes ou com acometimento do rebanho (Puvanendiran *et al.*, 2011). Esta variante está envolvida em doenças multissistêmicas, sendo capaz de acometer tecido respiratório, entérico, reprodutivo, dermatológico e ocasionar síndromes renais (Opriessnig; Langohr, 2013; Segalés, 2012). A síndrome do definhamento multissistêmico dos suínos (SDMS), causada pelo PCV2, tem grande impacto econômico, devido aos sinais clínicos de caquexia, dispneia, icterícia, diarreia e acentuada linfadenopatia (Segalés, 2012).

Devido ao seu caráter imunossupressor, as coinfeções com presença de PCV2 representam grande importância dentro do desenvolvimento da CDRS. Uma vez que ao infectar células do sistema imunológico, esse vírus causa imunossupressão nos animais. Dessa forma, os animais ficam suscetíveis a patógenos oportunistas, mesmo aqueles que estão presentes naturalmente na microbiota de seus tecidos (Meng; 2013; Opriessnig; Halbur, 2012).

De maneira semelhante, a variante PCV3 também provoca diferentes manifestações clínicas, sendo, também, um agente identificado na manifestação da CDRS (Bera *et al.*, 2020; Kedkovid *et al.*, 2018).

2.2.4 *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Actinobacillus pleuropneumoniae (App) é uma bactéria no formato de bacilo Gram-negativo, encapsulada com morfologia cocobacilar típica, agente etiológico da pleuropneumonia suína (Gottschalk; Lacouture, 2015). O primeiro isolamento ocorreu no ano de 1957, sendo inicialmente denominado por ser um organismo *Haemophilus*-like (Pattison; Howell; Elliot, 1957). Entretanto, após avaliação, a bactéria foi incluída posteriormente à família Pasteurellaceae e ao gênero *Actinobacillus* (Pohl *et al.*, 1983). Considerado parasita obrigatório do trato respiratório suíno, *A. pleuropneumoniae* pode ser isolado de cavidade nasal, amígdala, cavidade do ouvido médio e pulmão de suínos infectados (Sassu *et al.*, 2018).

Este agente é classificado de acordo com sua dependência em nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) em dois biótipos e pela composição de polissacarídeos capsulares (CPS) em 16 sorovares (Sassu *et al.*, 2018). As cepas do biótipo 1 dependentes de NAD, formam 12 sorotipos, enquanto as cepas do biótipo 2 podem sintetizar NAD na presença de nucleotídeos de piridina específicos ou seus precursores (Bossé *et al.*, 2002).

2.2.4.1 Patogênese e virulência

Diversos mecanismos de virulência contribuem para o estabelecimento da infecção por App. Entre eles, destacam-se os sistemas de aquisição e metabolismo de ferro - processo essencial para a sobrevivência e replicação do agente no hospedeiro, nos quais já foram identificados mais de 50 genes envolvidos (Li *et al.*, 2015).

Outro importante fator de virulência é a produção da toxina *Apx*, cuja citotoxicidade e atividade hemolítica variam entre os sorovares (Sárközi; Makrai; Fodor, 2015; Schuwerk *et al.*, 2021). A toxina *ApxI* apresenta forte atividade citotóxica e hemolítica, sendo produzida pelos sorovares 1, 5a, 5 b, 9, 10, 11, 14 e 16. Já a *ApxII* apresenta ambas as atividades atenuadas, sendo produzida por quase todos os sorovares, com exceção do 10 e 14. A *ApxIII* não possui atividade hemolítica, porém sua atividade citotóxica é exacerbada, sendo expressa pelos sorovares 2, 3, 4, 6, 8 e 15. Por fim, *ApxIV* é considerada uma toxina de baixa ação tecidual, sendo produzida por todos os sorovares (Kamp *et al.*, 1994; Schuwerk *et al.*, 2021).

2.2.4.2 Sinais clínicos

A. pleuropneumoniae está associado a quadros clínicos de evolução aguda ou crônica. Na forma aguda, ocorre o desenvolvimento de uma pleuropneumonia necrosante, frequentemente com evolução rápida para o óbito. Já os casos crônicos são aqueles que desenvolvem a forma assintomática da doença, após uma exposição de caráter agudo. Tais infecções subclínicas são importantes na manutenção do agente nos rebanhos, uma vez que servem de fonte de infecção para animais suscetíveis e não vacinados (Tobias *et al.*, 2014).

A fase hiperaguda da doença caracteriza-se por elevada mortalidade, com morte súbita dos animais acometidos. Os sinais clínicos típicos são sistêmicos, relacionados ao choque - insuficiência cardiovascular, hipotermia, dispneia com respiração oral, apatia, seguido de queda repentina da temperatura corporal. Os animais comumente são encontrados mortos, apresentando descarga nasal espumosa e sanguinolenta (Sassu *et al.*, 2018).

Nos casos agudos, a morbidade pode variar entre 10 e 100%, sendo observados sinais clínicos como anorexia, hipertermia e intensa dificuldade respiratória. Nessa fase, as lesões pulmonares se desenvolvem rapidamente, nos primeiros dias após a infecção, caracterizando-se por áreas extensas de necrose e consolidação (Hoeltig *et al.*, 2009). Já nas formas subagudas, os animais apresentam sinais intermediários e, progressivamente evoluem para o estágio crônico da doença. Nessa condição, os sinais clínicos tornam-se ausentes, embora persistam lesões teciduais marcadas por fibrose pulmonar (Meribaldi *et al.*, 2012). Já nas infecções crônicas, redução dos parâmetros zootécnicos, com atraso no ganho de peso e conseqüente aumento do tempo necessário para o abate (Thacker, 2001).

A severidade do quadro clínico depende de múltiplos fatores, incluindo a virulência do patógeno, a eficiência da resposta imunológica dos suínos, o nível de estresse, a

ocorrência de coinfeções e as condições de biossegurança da granja (Maes *et al.*, 2001). Em casos de coinfeções com *M. hyopneumoniae*, é comum a observação consolidação pulmonar nas regiões cranioventrais e presença de pleurisia (Flabet *et al.*, 2012; Maes *et al.*, 2023; Nascimento *et al.*, 2018).

Considerando as fases de produção, App é mais frequentemente detectado em suínos em fase de terminação, sendo sua ocorrência associada a expressivas perdas econômicas para o setor (Ruggeri *et al.*, 2020; Stygar *et al.*, 2016). Esse cenário ocorre principalmente devido à característica crônica que a infecção pode adquirir. Dessa forma, animais que superam a fase aguda podem persistir cronicamente infectados, com lesões pulmonares com presença de tecido fibroso, o que vai impactar em seu crescimento e desenvolvimento (Meribaldi *et al.*, 2012).

2.2.6 *Glaesserella (Haemophilus) parasuis*

Glaesserella (Haemophilus) parasuis é uma bactéria pertencente à família *Pasteurellaceae*, isolada pela primeira vez em 1922 e reconhecida como agente etiológico da Doença de Glässer. Originalmente classificada no gênero *Haemophilus*, análises filogenéticas demonstraram a formação de um clado específico dentro da família *Pasteurellaceae*, levando à sua reclassificação no gênero *Glaesserella* (Dickerman; Bandara; Inzana, 2020; Lewis; Shope, 1931; Oliveira; Pijoan, 2004).

Morfológicamente, trata-se de uma bactéria pequena, pleomórfica, Gram-negativa. Em animais jovens, está associada à ocorrência da doença de Glässer, enquanto em suínos adultos é responsável por quadros de pneumonia (Ni *et al.*, 2020; Oliveira; Pijoan, 2004). Este patógeno, considerado oportunista, coloniza o trato respiratório superior dos suínos ainda nas primeiras semanas de vida, podendo ser encontrado inclusive em rebanhos de alta sanidade (Dickerman; Bandara; Inzana, 2020).

A incidência de *G. parasuis* nos rebanhos e seus impactos econômicos na produção são significativos, causando perdas produtivas de até 60% (Zhang *et al.*, 2014). Além disso, o agente participa ativamente de coinfeções com outros patógenos respiratórios, como PCV2, PRRSV e vírus da Influenza Suína (Dickerman; Bandara; Inzana, 2020).

2.2.6.1 Patogênese e virulência

Atualmente *G. parasuis* é classificado em 15 sorovares que se distinguem em relação ao grau de virulência (Kielstein; Rapp-Gabrielson, 1992; Zhu *et al.*, 2024). Apesar disso, ainda existe um número considerado de isolados em que não foi possível realizar classificação (Zhu *et al.*, 2024).

De maneira geral, ainda há necessidade de esclarecimentos acerca do processo pelo qual *G. parasuis* causa lesão no tecido pulmonar, sendo que seus mecanismos de virulência são bastante variáveis entre os sorovares estudados (Blackall; Turni, 2013). Entre os mecanismos de ação deste patógeno, observa-se a ativação de mecanismos de escape do sistema imune do hospedeiro. Dessa forma, são observadas atividades de proteases em imunoglobulinas, resistência à fagocitose, resistência ao complemento no soro e mecanismos de adesão e invasão das células do hospedeiro (Zhang *et al.*, 2014).

Na atividade de proteases, *G. parasuis* é capaz de realizar a clivagem de imunoglobulinas A suína (IgA). Esse mecanismo de ação é essencial para que o patógeno possa superar a barreira das mucosas respiratórias das vias aéreas superiores e iniciar o processo de colonização sistêmica do organismo (Mullins *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2014). A resistência à fagocitose está associada à expressão das proteínas *VtaA8* e *VtaA9*, responsáveis pela resistência do patógeno contra células fagocíticas (Costa-Hurtado *et al.*, 2012; Olvera *et al.*, 2009). Além disso, a infecção estimula a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-6 (IL-6) e IL-8, que contribuem para o processo inflamatório local (Bouchet *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2014).

Após ultrapassar as primeiras barreiras de defesa, a bactéria pode alcançar a corrente sanguínea, onde a partir de intensa multiplicação, resultará em quadros de septicemia. Nessa fase, *G. parasuis* utiliza mecanismos de evasão ao sistema complemento, mediados por proteínas de superfície (ex. OMPs - proteínas externas de membrana, LOS - lipoligossacarídeos, proteínas de superfície de cápsula) que conferem resistência à lise sérica e persistência do microrganismo no hospedeiro (Xu *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014).

A multiplicação bacteriana nos tecidos desencadeia uma intensa resposta inflamatória, responsável pelos sinais clínicos da doença (Costa-Hurtado; Aragon, 2013). No trato respiratório, a infecção pode induzir apoptose das células do epitélio traqueal, contribuindo para a formação de lesões e comprometimento da mucosa (Bouchet *et al.*, 2009).

2.2.6.2 Sinais clínicos

Os sinais clínicos da doença de Glässer são inespecíficos e, inicialmente incluem manifestações gerais como febre, tosse e respiração abdominal. Quando ocorre a disseminação para as articulações, observa-se aumento do volume articular e claudicação (Aragon *et al.*, 2010). Nos casos mais graves, com acometimento do sistema nervoso, os suínos podem ser encontrados em decúbito lateral, apresentando movimentos de pedalagem e tremores musculares (Aragon *et al.*, 2010). A intensa multiplicação bacteriana e o desenvolvimento de bacteremia podem evoluir para quadros de poliserosite, artrite, meningite, pneumonia e até mesmo sepse, com curso clínico fatal (Dickerman; Bandara; Inzana, 2020; Oliveira; Pijoan, 2004).

Devido ao caráter oportunista de *G. parasuis*, a doença é mais comumente observada em suínos jovens, especialmente nas fases de maternidade e/ou creche (Ruggeri *et al.*, 2020). Animais entre 3 semanas e 4 meses de idade são o grupo mais suscetível, sendo o estresse ambiental um fator determinante para a imunossupressão e predisposição à infecção (Ni *et al.*, 2020). Nessa faixa etária, os casos agudos cursam com polisserosite fibrinosa, podendo estar associado à pneumonia catarral purulenta (Aragon *et al.*, 2010).

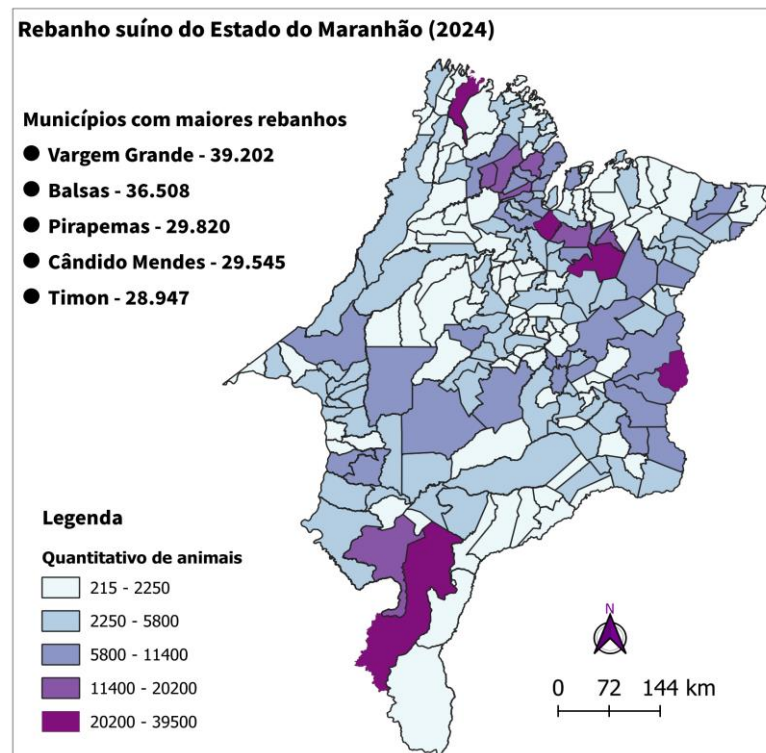
Apesar da manifestação clínica ser mais frequente em animais jovens, surtos também tem sido relatados em suínos adultos, em fase de terminação das produções (Dickerman; Bandara; Inzana, 2020). Nesses casos, a infecção geralmente assume caráter crônico, associado a redução no ganho de peso e polisserosite observada em avaliação necroscópica (Aragon *et al.*, 2010).

2.4 Panorama da Suinocultura no Maranhão e na Ilha do Maranhão

O estado do Maranhão apresenta uma produção agropecuária diversificada, abrangendo diferentes tipos de atividade na criação de animais, entre elas principalmente a bovinocultura, avicultura e suinocultura (IBGE, 2024). Quando se trata da criação de suínos, a Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM) apresentou que o estado possui um efetivo de 961.749 cabeças, com um registro de 70.517 estabelecimentos de produção para a espécie pelo Censo Agropecuário de 2017 (IBGE, 2024).

Dos 217 municípios maranhenses, cinco se destacam no quantitativo de rebanhos, sendo eles Vargem Grande, Balsas, Pirapemas, Cândido Mendes e Timon. Analisando espacialmente, percebe-se que tais municípios representam as diferentes regiões do estado – norte, sul, oeste e leste, demonstrando a ampla distribuição territorial da atividade suinícola no Maranhão (Figura 1).

Figura 1: Mapa de densidade de rebanho suíno por município no Estado do Maranhão (2024).



Fonte: elaboração própria (2025). Dados - Pesquisa da Pecuária Municipal - IBGE (2024).

Em 2024, o rebanho suíno do Maranhão representou 2,19% (961.749/43.914.785) do rebanho nacional, posicionando o estado como o 12º maior produtor do país. Na região Nordeste, o Maranhão é o 4º maior produtor, ficando atrás do estado do Ceará - 3,01% (1.324.480/43.914.785), Bahia - 2,58% (1.134.931/43.914.785) e Piauí - 2,46% (1.084.572/43.914.785). Embora esse percentual seja baixo quando comparado aos estados de maior produção no país, ele se mantém relativamente estável na série histórica, conforme indicado pelos dados dos últimos cinco anos (Quadro 1).

Quadro 1: Série temporal de rebanho suíno no Brasil e no Maranhão.

| SÉRIE TEMPORAL DO REBANHO SUÍNO NO BRASIL E NO MARANHÃO (2020 - 2024) (cabeças) | | | | | |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|
| | ANO | | | | |
| | 2020 | 2021 | 2022 | 2023 | 2024 |
| Brasil | 41.211.188 | 42.550.892 | 44.388.351 | 43.124.200 | 43.914.785 |
| Maranhão | 1.030.544 | 996.815 | 984.666 | 975.387 | 961.749 |

| | | | | | |
|---|-----|------|------|------|------|
| % | 2,5 | 2,34 | 2,21 | 2,26 | 2,19 |
|---|-----|------|------|------|------|

Fonte: elaboração própria (2025). Dados: Pesquisa da Pecuária Municipal - IBGE (2021 - 2025).

Apesar do número pouco expressivo a nível nacional, a espécie suína para o estado se apresenta como a terceira mais populosa, pelo cálculo de índice demográfico (ID), com um valor 3,13 cabeças/km², ficando atrás somente dos planteis de aves e o rebanho bovino maranhense (Silva *et al.*, 2023).

Quando se trata das tipologias dos estabelecimentos de criação, podem ser citados dois tipos específicos: estabelecimentos de agricultura familiar e não familiar. Segundo dados do Censo Agropecuário (2017), 85,14% dos estabelecimentos são de agricultura familiar no estado (Santos *et al.*, 2020). Na atividade da suinocultura, de todo o efetivo do rebanho estadual, percebe-se que essa categoria de produção compreende 79-86% dos animais no Maranhão (Santos *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2023), o que demonstra que grande parte das criações são de origem de médio a pequeno produtor.

Em contraste a essa informação, o município de Balsas, que é um dos líderes de concentração de animais (IBGE, 2024), é caracterizado fortemente por uma suinocultura intensiva, sendo a localização da maior granja tecnificada do estado, trabalhando com controles sanitário, zootécnico e reprodutivo (Saraiva *et al.*, 2022).

Essa diferença desses dois tipos de produção fica expressa principalmente nos níveis de tecnologia adotados pelos produtores para a criação de suínos, pois há um desequilíbrio em relação a tecnificação entre as propriedades (Santos *et al.*, 2021; Saraiva *et al.*, 2022). Tais propriedades de agricultura familiar, de caráter de subsistência com ou não comércio de produção, requerem maior atenção devido aos possíveis riscos sanitários oriundos da criação com déficits de biossegurança, como vacinação, vermifugação, vazios sanitários e ausência e/ou reduzida assistência técnica veterinária (Ferreira, H. *et al.*, 2021; Saraiva *et al.*, 2022).

Na Região Tocantina, de maneira geral, as criações de suínos são de pequenos produtores, agricultores familiares, sem ligação com empresas ou organização dos atores da atividade em cooperativas ou associações (Acioly *et al.*, 2023). Embora muitos produtores atendam às exigências sanitárias mínimas para a criação de suínos, uma parcela significativa conduz a produção em desacordo com as normas básicas, evidenciando a necessidade de programas de educação sanitária e treinamento em boas práticas de fabricação (Acioly *et al.*, 2023).

Já na região da Baixada Maranhense, modelos ultra-extensivos de manejo foram registrados na criação de suínos baixadeiros, com deficiências relacionadas a estrutura das instalações, nutrição dos animais, manejo sanitário e acompanhamento profissional por técnicos habilitados (Ferreira, H. *et al.*, 2021).

Quando se trata da Ilha do Maranhão, a região abrange quatro municípios, sendo eles São Luís – a capital do estado, São José de Ribamar, Paço do Lumiar e Raposa. Esses municípios, apesar de constituírem uma região majoritariamente urbana da ilha, também são reconhecidos por possuírem regiões de agricultura periurbana, com a presença de pequenos e médios produtores de suínos nas regiões (Rocha; Ottati; Campos, 2018).

Em São Luís, o sistema de produção classifica-se predominantemente como comercial independente, em que o próprio produtor é responsável pela criação e comercialização dos animais (Neta *et al.*, 2020). Chama-se atenção que essa classificação pode ser atribuída mesmo a propriedades com baixa assistência técnica, como ocorre com grande parte dos produtores da ilha (Neta *et al.*, 2020; Rocha; Ottati; Campos, 2018).

Diferentemente de outras regiões do estado, a suinocultura da Ilha do Maranhão, apesar do caráter familiar, adota principalmente sistema de criação intensivo a semi-intensivo. Porém, ainda com a presença de instalações mais rústicas, manejo nutricional ainda limitado e pouco controle em relação a reprodução dos animais (Rocha; Ottati; Campos, 2018).

Outro fator importante na avaliação da atividade da suinocultura é em relação a movimentações de animais e suas finalidades. Especificamente para o município de São Luís, Neta *et al.* (2020) identificou uma queda no número de Guia de Trânsito Animal (GTA) para o município, entretanto com um expressivo aumento do número de cabeças de animais, sendo a principal finalidade de movimentação o abate. Entre os municípios de maiores envios, a cidade de Balsas destacou-se com o maior quantitativo, também para abate na capital (Neta *et al.*, 2020).

Essas movimentações registradas dizem respeito aos abates inspecionados na região, principalmente justificadas pela movimentação de animais provenientes do pólo de criação intensivo do município de Balsas (Neta *et al.*, 2020; Saraiva *et al.*, 2022). Entretanto, dos animais criados nos municípios da ilha, a situação de abate ocorre de maneira divergente. É comum o cenário em que os criadores vendem os animais vivos ou abatidos para feiras, açougues e restaurantes de forma clandestina, muitas vezes no próprio entorno ou em bairros próximos às criações (Rocha; Ottati; Campos, 2018).

De maneira geral, constata-se que a atividade de suinocultura é um ramo relevante da pecuária no estado do Maranhão, porém ainda enfrenta desafios específicos que limitam o desenvolvimento do setor. A estrutura organizacional e estrutural da cadeia de agricultura familiar exige atenção prioritária para a melhoria das criações nos aspectos de infraestrutura, manejo reprodutivo, assistência técnica, sanitária e boas práticas de fabricação. Além disso, destaca-se a importância do papel da educação sanitária para incentivar a regularização dos produtores, uma vez que a atuação de maneira clandestina é um fator limitante para o desenvolvimento adequado da suinocultura.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a presença de agentes do Complexo de Doenças Respiratórias de Suínos (CDRS) em suínos submetidos ao abate na Ilha do Maranhão – MA.

3.2 Objetivos específicos

- Investigar a presença de DNA dos agentes Circovírus Tipo 2, *Actinobacillus pleuropneumoniae* e *Glaesserella (Haemophilus) parasuis* em amostra de pulmão de suínos abatidos em estabelecimentos com e sem inspeção sanitária;
- Avaliar estatisticamente a associação de agentes em coinfeções.

4 MATERIAL E MÉTODOS

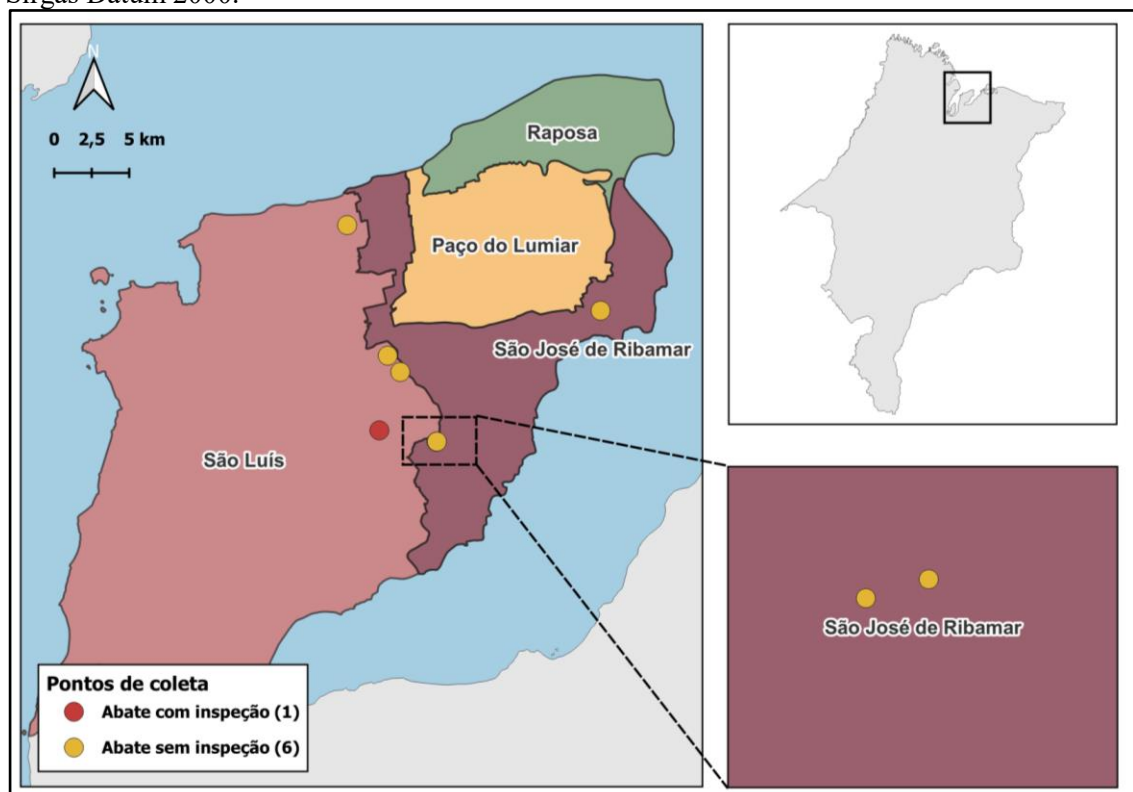
4.1 Origem das amostras

A amostra utilizada foi calculada pelo software EPI-Info 6 (Atlanta, GA, EUA), utilizando como parâmetros: rebanho suíno do estado; prevalência estimada de 50% para *M. hyopneumoniae*, com margem de erro de 8%. Desta forma, foram avaliados 150 suínos por amostragem aleatória, 65 oriundos de abate fiscalizado e 85 de abate não fiscalizado (Rodrigues *et al.*, 2023).

As 150 amostras de fragmentos de pulmão de suínos foram coletadas da região cranioventral dos lóbulos pulmonares, entre os anos de 2019 a 2021, armazenadas em microtubos estéreis e mantidas a -20°C , conforme descrito por Rodrigues *et al.* (2023). Destas, sabia-se previamente que 44 são positivas para o agente bacteriano *M. hyopneumoniae*, através de avaliação por qPCR para o gene p183 (Rodrigues *et al.*, 2023).

As amostras são provenientes de distintos locais da Ilha do Maranhão, sendo: um abatedouro certificado pelo Serviço de Inspeção Estadual - S.I.E (65 amostras) e 6 pontos de abate sem inspeção (85 amostras) (figura 2). As coletas foram realizadas com aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal - UEMA, sob o protocolo de nº 020/2019.

Figura 2: Mapa dos pontos de coletas georreferenciados. Sistemas de Coordenadas Geográficas Sirgas Datum 2000.



Fonte: elaboração própria (2024). Software QGis versão 3.40.2 – Bratislava.

4.2 Análise molecular

4.2.1 Extração de DNA

As amostras foram submetidas à extração de DNA, utilizando o kit comercial Wizard Genomic DNA Purification (Promega® - Madison, Wisconsin, EUA), de acordo com as instruções do fabricante.

4.2.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR) para gene endógeno

Foi realizado PCR convencional para o gene endógeno Citocromo B (Cyt B) para verificar a integridade e presença de inibidores nas amostras de DNA extraído, utilizando os iniciadores Cyt B1-F 5' - CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA - 3' e Cyt B1-R 5' - GCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA - 3', descritos por Steuber; Abdel-Rady; Clausen (2005), visando a amplificação de um fragmento de 359 pares de base (bp).

O material extraído foi amplificado, utilizando 6,25 µL de Taq DNA Polymerase (Promega®), 0,5 µL de cada primer (10 pmol), 4,25 µL de água ultrapura e 1µL de DNA. A reação em termociclador consistiu em uma desnaturação inicial de 94°C durante 5 minutos, seguida de 34 ciclos de 94° C durante 30 segundos, anelamento de 55°C durante 45 segundos, extensão de 72° C durante 30 segundos e extensão final de 72° C durante 10 minutos. O produto amplificado foi submetido a eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com SYBR® Safe DNA Gel Stain e visualizado sob luz UV após eletroforese (60 V, 40min).

4.2.3 PCR para agentes do Complexo Respiratório dos Suínos

4.2.3.1 PCR em tempo real quantitativa (qPCR) para PCV2

As amostras positivas na PCR convencional para o gene Cyt B foram submetidas à reação de qPCR para PCV2, baseada no gene que codifica a enzima replicase (rep), conforme descrição por Henrique *et al.* (2018) - fragmento alvo de 144 pares de base (bp). A reação foi realizada com 500 ng de DNA total, 25 pmol de cada primer e 5 pmol de sonda, utilizando o GoTaq® Probe qPCR Master Mix (Promega®), conforme protocolo do fabricante. O programa de amplificação incluiu uma desnaturação inicial a 95°C por 10 min, seguida por

45 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos, anelamento a 52°C por 30 segundos e extensão a 60°C por 20 segundos (Strait et al., 2008; Henriques *et al.*, 2018). Para quantificação das cópias de DNA/ μL , foi utilizada sequência alvo com gBlocks (Integrated DNA Technologies, Coralville, Iowa, EUA) para PCV2. Foram realizadas diluições seriadas para verificar padrão com diferentes concentrações de DNA, contendo a sequência alvo ($2,0 \times 10^7$ cópias/ μL a $2,0 \times 10^2$ cópias/ μL). Água ultrapura (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA) foi o controle negativo.

4.2.3.2 PCR convencional para análise filogenética para Circovirus Tipo 2

Para análise filogenética dos isolados de PCV2, um total de 25 amostras foram escolhidas a partir do resultado da qPCR, de acordo com a menor quantidade de ciclos obtidos na reação (Ct), as quais foram submetidas a PCR convencional para o gene ORF2 (Dinh *et al.*, 2021). Foram utilizados os iniciadores PCV-2-F-ATGACGTATCCAAGGAGGCG e PCV-2-R- TTAAGGGTTAAGTGGGGGGTC (Dinh *et al.*, 2021). O gene ORF2 foi amplificado a partir de 6,25 μL de Taq DNA Polymerase (Promega®, Madison, WI, EUA), 0,5 μL de cada primer (10 pmol), 4,25 μL de água ultrapura e 1 μL de DNA, utilizando-se o termociclador. A reação consistiu em uma desnaturação inicial de 95°C durante 3 minutos, seguida de 33 ciclos de 94° C durante 1 minutos, hibridização de 58°C durante 1 minuto, extensão de 72° C durante 45 segundos, e uma extensão final de 72° C durante 5 minutos.

Os produtos amplificados foram purificados utilizando o kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega®, Madison, WI, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. O DNA purificado foi quantificado utilizando um espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA). Amostras com quantificação de DNA-alvo acima de 1.000 cópias/ μL por qPCR e apresentando bandas únicas e fortes na cPCR foram selecionadas para sequenciamento. O sequenciamento foi realizado em um sequenciador ABI PRISM 3700 Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), seguindo o método de terminação da cadeia didesoxinucleotídica (Sanger; Nicklen; Coulson, 1977).

Os eletroferogramas das sequências obtidas foram analisados usando o software FinchTV 1.4 (Geospiza, Seattle, WA, EUA). A sequência consenso, correspondente às fitas de DNA direta e reversa, foi gerada usando o CAP3 – Sequence Assembly Program (PRABI-Doua, Villeurbanne, AURA, França). As sequências de nucleotídeos, salvas no formato FASTA, foram alinhadas com 29 sequências homólogas obtidas do banco de dados

GenBank. As sequências do gene ORF2 foram alinhadas usando a ferramenta Clustal/W no BioEdit 7.2 e ajustadas manualmente. O alinhamento cobriu 620 bp, incluindo lacunas. Uma sequência PCV3 (MF0792531) foi usada como um grupo externo. A árvore filogenética foi construída usando o método da máxima verossimilhança, com base no modelo evolutivo de Kimura de 2 parâmetros de melhor ajuste (Kimura, 1980). O suporte do clado foi avaliado pela análise bootstrap (Felsenstein, 1985) com 1.000 réplicas no software MEGA10 (Kumar *et al.* 2018).

4.2.3.3 PCR convencional para *Actinobacillus pleuropneumoniae* e *Glaesserella parasuis*

As amostras foram avaliadas por PCR convencional para detecção de material genético dos agentes: *A. pleuropneumoniae* e *G. parasuis*. As reações foram realizadas conforme descrito em literatura para os respectivos primers de cada agente (Quadro 2) e os produtos amplificados foram avaliados em eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com SYBR® Safe DNA Gel Stain e visualizado sob luz UV após eletroforese (60 V, 40min).

Quadro 2: Sequências de primers utilizados para pesquisa molecular.

| AGENTE | GENE | TAMANHO (bp) | SEQUÊNCIA 5' → 3' | REFERÊNCIA |
|----------------------------|--------------|--------------|---|---------------------------------|
| <i>A. pleuropneumoniae</i> | Proteína LPF | 951bp | F - AAG GTT GAT ATG TCC GCA CC R - CAC CGA TTA CGC CTT GCC A | Sun <i>et al.</i> (2021) |
| <i>G. parasuis</i> | 16S rRNA | 821bp | F - GTGATGAGGAAGGGTGGTGT R - GGCTTCGTCACCCTCTGTA | Oliveira; Galina; Pijuan (2001) |

Para *A. pleuropneumoniae*, o material extraído foi amplificado, utilizando 12,5 µL de Taq DNA Polymerase (Promega®), 2 µL de cada primer (10 pmol), 6,5 µL de água ultrapura e 2µL de DNA. A reação em termociclador consistiu em uma desnaturação inicial de 95°C durante 2 minutos, seguida de 30 ciclos de 95° C durante 30 segundos, anelamento de 65°C durante 30 segundos, extensão de 72° C durante 2 minutos e extensão final de 72° C durante 10 minutos. Como controle negativo foi utilizado água ultrapura e, como controle positivo, material extraído da vacina comercial Porcilis APP® (Paço de Arcos, Lisboa, Portugal).

Para amplificação de *G. parasuis*, o material extraído foi submetido a PCR convencional, utilizando 12,5 µL de Taq DNA Polymerase (Promega®, Madison, WI, EUA), 0,75 µL de cada primer (10 pmol), 9 µL de água ultrapura e 2µL de DNA. A reação

em termociclador consistiu em uma desnaturação inicial de 95°C durante 2 minutos, seguida de 30 ciclos de 94° C durante 30 segundos, anelamento de 59°C durante 30 segundos, extensão de 72° C durante 2 minutos e extensão final de 72° C durante 10 minutos. Como controle negativo foi utilizado água ultrapura e, como controle positivo, material extraído da vacina comercial Porcilis Glässer® (Paço de Arcos, Lisboa, Portugal).

Os produtos amplificados para todos os agentes foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com SYBR® Safe DNA Gel Stain (Waltham, MA, EUA) e visualizado sob luz UV após eletroforese (70 V, 40min).

4.3 Análise estatística

Para avaliar a associação entre os diferentes patógenos e a relação de positividade entre as categorias de abate, foi utilizado o teste exato de Fisher, em tabelas de contingência 2×2 , considerando a presença ou ausência de cada agente. Esse teste é indicado para amostras pequenas ou distribuições com frequências baixas, proporcionando um valor de p exato para a relação entre as variáveis. Para avaliação da positividade em relação às categorias de abate, foi utilizado o teste qui-quadrado. Resultados com $p < 0,05$ foram considerados significativos. Todas as análises foram realizadas no software RStudio© versão 2024.12.1+563 "Kousa Dogwood".

5 RESULTADOS

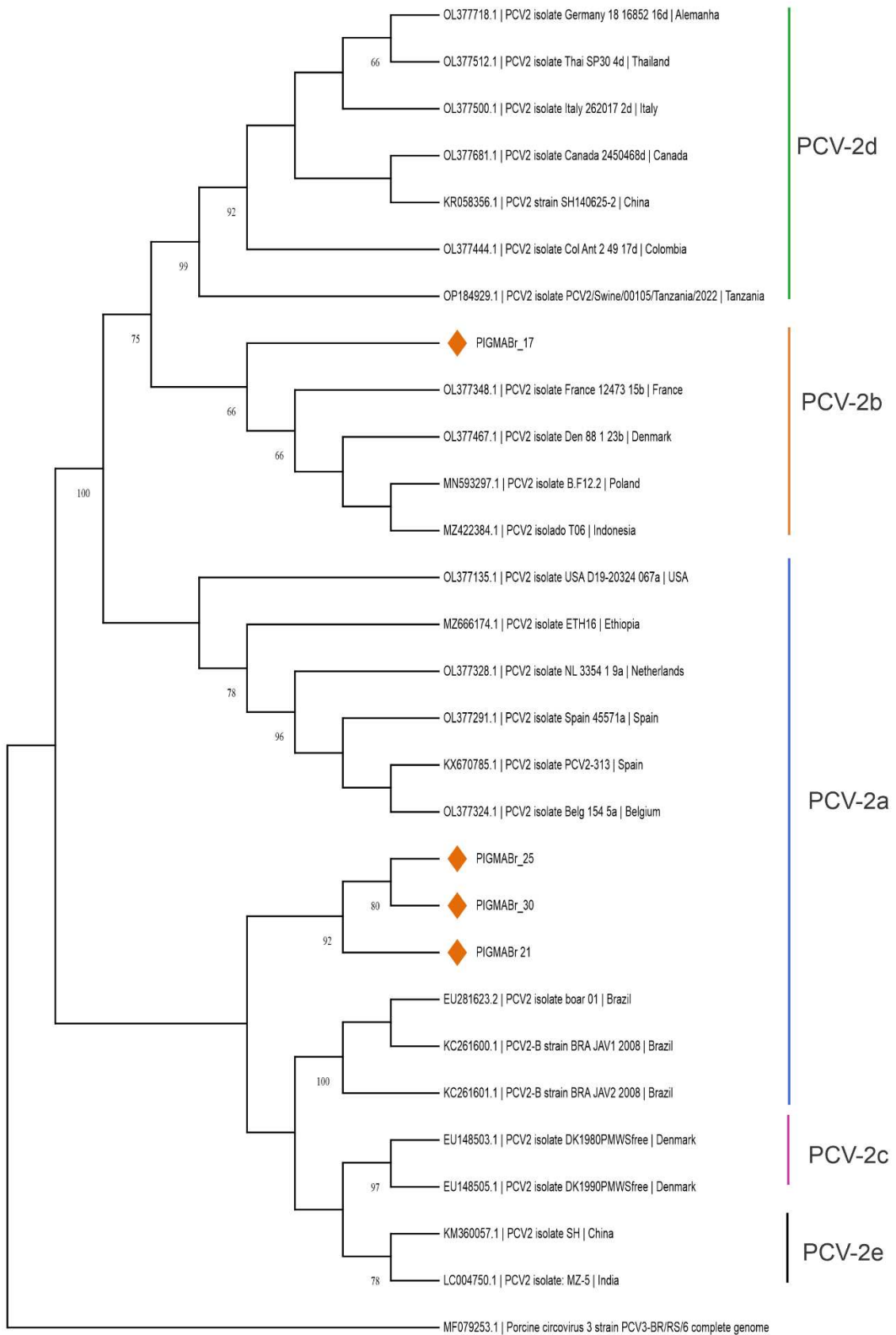
Da amostragem de 150 animais, 121 apresentaram positividade para o gene endógeno citocromo B (Cyt B) e foram utilizadas para as análises moleculares.

5.1 Detecção e análise filogenética de PCV2 (qPCR)

Na pesquisa para PCV2, foi obtido um percentual de positividade de 66,95% ($n = 81/121$), com quantidades de cópias do gene que codifica a enzima replicase (rep) variando de $3,28 \times 10^1$ a $5,38 \times 10^5$. A média encontrada de cópias do fragmento foi de $1,31 \times 10^4$ cópias. A eficiência da qPCR variou de 90,2% a 100,35%; o coeficiente de determinação variou de 0,998 a 0,999; a inclinação variou de -3,59 a -3,228; e a interceptação do eixo Y variou de 39,82 a 41,68.

Na análise filogenética, das amostras submetidas a PCR convencional para o gene ORF2 de PCV-2, somente 4 apresentaram produto amplificado de qualidade para ser sequenciado, sendo as sequências obtidas submetidas à avaliação filogenética (figura 5). Três amostras apresentaram alinhamento com isolados de genótipo tipo A (PCV2a) e um com isolados de genótipo tipo B (PCV2b), constando a ocorrência desses dois genótipos no grupo avaliado.

Figura 5: Árvore filogenética dos isolados para o agente PCV2. A história evolutiva foi inferida utilizando o método da máxima verossimilhança e o modelo Kimura de 2 parâmetros. Esta análise envolveu 29 sequências de nucleotídeos. Havia um total de 620 posições no conjunto de dados final. As análises evolutivas foram conduzidas no MEGA X. Uma sequência do circovírus suíno tipo 3 (PCV-3) (número de acesso MF079253.1) foi usada como grupo externo para o enraizamento da árvore. Os losangos laranja indicam as sequências isoladas nesta pesquisa.

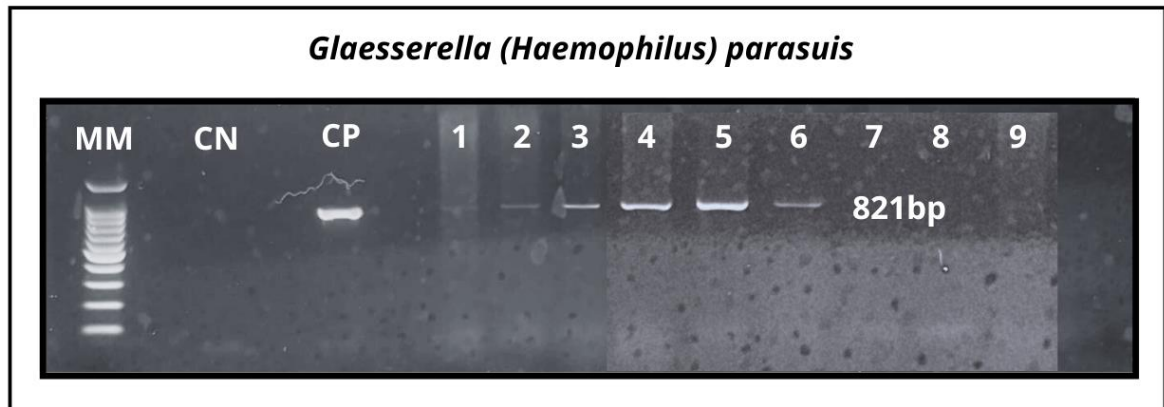


Fonte: Silva, E. M. C. (2024).

5.2 Detecção de *A. pleuropneumoniae* e *G. parasuis* (cPCR)

Na pesquisa para detecção dos patógenos bacterianos respiratórios por PCR convencional, nenhuma das amostras avaliadas confirmou a presença de *A. pleuropneumoniae*. Entretanto, seis amostras (4,9%) foram positivas para o agente da doença de Glässer, *G. parasuis* (figura 3).

Figura 3: Eletroforese em gel de agarose a 1,5% corado com SybrSafe®. Os ampliceros mostrados na foto são relativos à PCR convencional para a região gênica 16S do rRNA de *Glaesserella parasuis*. MM: marcador de peso molecular; CN: Controle negativo; CP: Controle positivo; 1, 2, 3, 4, 5 e 6: amostras amplificadas; 7, 8, 9: amostras negativas



Fonte: elaboração própria (2025).

5.3 Coinfecções identificadas

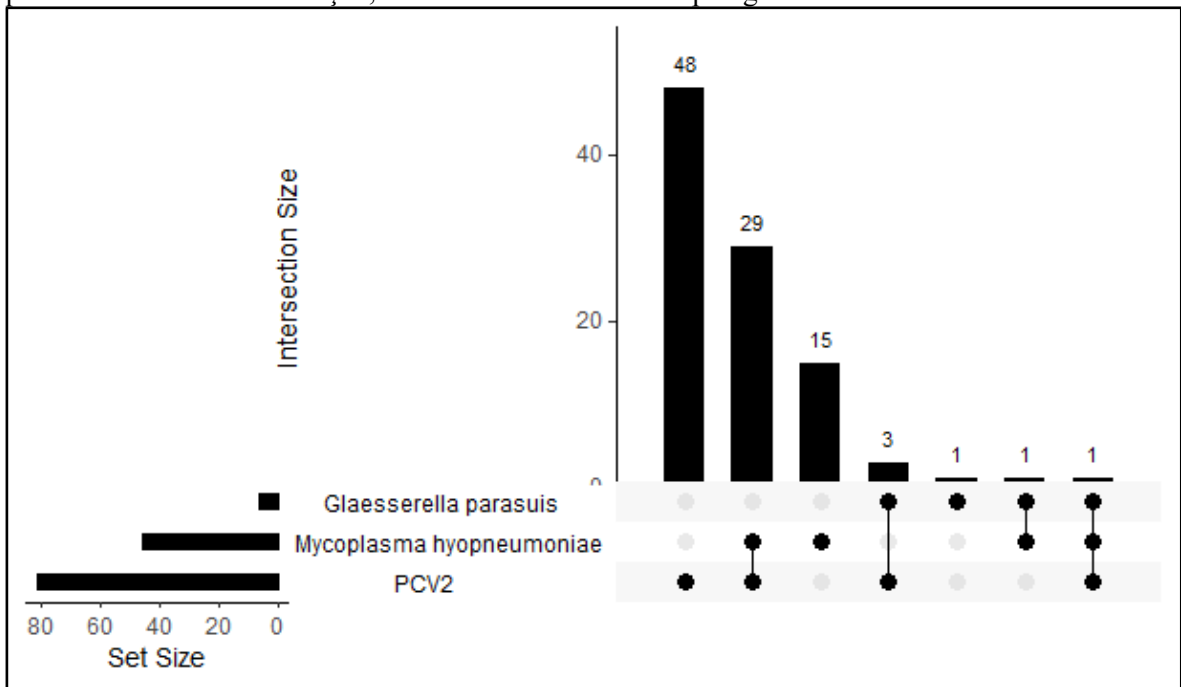
Tendo em vista os resultados de Rodrigues *et al.* (2023), onde 44 amostras dos mesmos fragmentos utilizados nesta pesquisa foram positivas para *M. hyopneumoniae*, também foi possível identificar combinações de coinfecções com este patógeno.

Das 81 amostras positivas para PCV2, 48 (59,25%) foram positivas somente para o agente viral, enquanto 29 (35,8%) também apresentaram positividade *M. hyopneumoniae*. Das seis amostras positivas para *G. parasuis*, somente uma foi positiva como infecção única (16,66%), enquanto as outras cinco também apresentaram positividade para mais de um agente da pesquisa: três amostras foram positivas para *G. parasuis* e PCV2 (50% - 3/6), uma para *G. parasuis* e *M. hyopneumoniae* (16,66% - 1/6), e uma amostra apresentando positividade tripla com *G. parasuis*, *M. hyopneumoniae* e PCV2 (16,66% - 1/6).

O gráfico upset abaixo apresenta um resumo das combinações de coinfecções encontradas (figura 4).

Figura 4: Gráfico Upset demonstrando as interseções entre as infecções por *Mycoplasma hyopneumoniae*, PCV2 e *Glaesserella (Haemophilus) parasuis*. Barras verticais: quantidade positiva para infecção única ou combinação de patógenos (interseções). Barras horizontais: número total

positivo para cada patógeno isoladamente. Matriz inferior: pontos pretos indicam os patógenos presentes em cada combinação, com linhas conectando os patógenos detectados simultaneamente.



Fonte: elaboração própria (2025). RStudio© versão 2024.12.1+563 "Kousa Dogwood".

Na análise estatística para as associações entre as duplas de patógenos através do teste exato de Fisher, os valores de p obtidos para PCV2 – *M. hyopneumoniae*, PCV2 – *G. parasuis* e *G. parasuis* – *M. hyopneumoniae* foram acima de 0,05. Valores de $p > 0,05$ indicam ausência de associação estatística significativa entre as infecções detectadas.

5.4 Avaliação nas categorias de abate

Na avaliação quanto à categoria dos estabelecimentos de abate, as amostras que apresentaram positividade são tanto de origem de abate fiscalizado quanto de abate não fiscalizado, como demonstrado no quadro 3. Somente infecções únicas pelo agente viral PCV2 foram detectadas nas amostras de abatedouro inspecionado, enquanto todas as demais combinações de infecção e coinfeções foram de abatedouros irregulares na Ilha do Maranhão.

Quadro 3: Classificação das combinações de infecção por categoria de abate.

| Tipo de infecção | ABATE FISCALIZADO | ABATE NÃO FISCALIZADO |
|--------------------------------|-------------------|-----------------------|
| PCV2 | 20 ^a | 61 ^b |
| PCV2 + <i>M. hyopneumoniae</i> | 0 | 29 |

| | | |
|---|-----------|-----------|
| <i>G. parasuis</i> | 0 | 1 |
| <i>G. parasuis</i> + PCV2 | 0 | 3 |
| <i>G. parasuis</i> + <i>M. hyopneumoniae</i> | 0 | 1 |
| PCV2 + <i>G. parasuis</i> + <i>M. hyopneumoniae</i> | 0 | 1 |
| TOTAL | 20 | 96 |
| Nota: valores seguidos de letras diferentes indicam diferença estatística significativa pelo teste de Qui-quadrado ($p < 0,001$). | | |

Fonte: elaboração própria (2025).

Das amostras obtidas do abate irregular, cinco pontos de coleta consistiram de pontos em feiras que recebiam os animais abatidos sem inspeção e um galpão de abate clandestino. Quando avaliadas as duas porcentagens de acordo com a categoria de abate (com e sem inspeção) para infecções envolvendo o agente PCV2, observou-se uma diferença estatística pelo teste de qui-quadrado de Pearson ($p < 0,001$).

6 DISCUSSÃO

Esta pesquisa demonstrou uma alta taxa de positividade para o agente viral PCV2 pela técnica de qPCR. No Estado do Maranhão, essa é a primeira descrição deste agente viral, com presença de coinfeções em amostras de pulmão de suínos, tanto em animais oriundos de sistemas tecnificados, com maior acesso às tecnologias de criação, com abate inspecionado, quanto em criações de agricultura familiar, com acompanhamento técnico reduzido e abate sem inspeção.

A incidência de PCV2 nos rebanhos mundiais e brasileiros é bastante variável. Apesar de ser considerado um agente comum na população de suínos em todo mundo (Opriessnig *et al.*, 2020), sua detecção pode ser mascarada pelo fato de que muitos animais podem ser portadores assintomáticos do vírus o que também contribui para disseminação viral e altas taxas de morbidade deste agente (Barbosa *et al.*, 2008; Lippke *et al.*, 2024).

Em um estudo conduzido por Xiao *et al.* (2024) em 13 cidades da China, país com o maior rebanho suíno do mundo, houve a detecção de PCV2 em 41,42% das amostras coletadas entre os anos de 2014 e 2021. A abrangência de municípios e a distribuição temporal na coleta das amostras demonstrou a presença desse agente no país de maneira endêmica.

Nos Estados Unidos, localização do segundo maior rebanho dessa espécie no mundo, Cezar *et al.* (2024) avaliaram a presença desse agente ao longo de 21 anos, através de análise de resultados de PCR em laboratórios veterinários. De 2002 a 2006, foi observado um aumento significativo de casos positivos nos animais analisados, porém com uma queda acentuada a partir do ano de 2007, a qual os autores relacionaram com a maior disponibilidade vacinal para este agente que aconteceu a partir de 2006. Dessa maneira, apesar de não ter o desaparecimento dos casos, a morbidade de PCV2 nos rebanhos foi reduzida a partir desse período.

No Brasil, essa variação de positividade não é diferente, não havendo uma porcentagem média da presença do vírus entre os rebanhos do país. No Estado do Espírito Santo, De Sousa *et al.* (2023) identificaram a presença de PCV2 somente em 10% (n = 14/140) das amostras avaliadas através de nested-PCR. Entretanto, em avaliação sorológica realizada por Duque *et al.* (2020) em abatedouros com recebimento de animais oriundos de granjas tecnificadas de estados da região Nordeste, observou-se a presença de anticorpos para PCV2 variando de 73,89% a 90,58% (Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Pernambuco e Rio Grande do Norte).

As duas pesquisas utilizaram de técnicas diagnósticas diferentes, o que pode influenciar na variação dos resultados obtidos entre as técnicas molecular e de sorologia. Ressalta-se ainda que, para a avaliação sorológica, Duque *et al.* (2020) estabeleceram como requisitos de seleção animais sem vacinação prévia nas granjas para PCV2, eliminando a possibilidade de detecção de anticorpos vacinais.

Analisando os dados para este agente em relação às categorias de abate (com e sem inspeção), percebe-se uma alta taxa de positivos pertencendo ao grupo não inspecionado. Entretanto, uma quantidade importante também foi identificada entre os animais oriundos do abate inspecionado. Zanella, Morés e Barcellos (2016) descrevem o PCV2 no Brasil como uma ameaça sanitária presente de forma endêmica na suinocultura tecnificada. Na região Nordeste, Pontes *et al.* (2014), avaliando 25 suínos, através de 55 amostras de linfonodos e pulmão, oriundas de abatedouro inspecionado em Pernambuco, identificou 100% de positividade nos fragmentos, através da técnica de singletube-nested PCR.

Os animais oriundos do abate inspecionado nesta pesquisa tinham como origem o pólo de criação intensa do município de Balsas, com destaque em tecnificação e tecnologias de manejo. Entretanto, o percentual de positividade para PCV2 entre essas amostras foi alta (20/65). Este resultado corrobora com Zanella, Morés e Barcellos (2016) na descrição deste agente como endêmico na suinocultura tecnificada.

Quando se trata do abate não inspecionado na Ilha do Maranhão, as amostras foram provenientes de cinco pontos de coleta que consistiram de feiras que recebiam os animais abatidos sem inspeção e diretamente de um galpão de abate clandestino. Ressalta-se que, apesar do abate acontecer dentro da ilha, as origens desses animais podem abranger diferentes municípios do estado, uma vez que a movimentação desses animais não é acompanhada de registro oficial através da Guia de Trânsito Animal – GTA. Esta categoria de abate apresentou uma diferença estatisticamente significativa em relação à positividade para PCV2, provavelmente devido às condições associadas à procedência e baixo manejo sanitário neste grupo.

Galindo-Barboza *et al.* (2024) descrevem que criações que apresentam menores índices de biosseguridade apresentam um aumento nas chances de disseminação de patógenos, uma vez que esses sistemas de criação de baixos níveis de tecnificação contribuem para a manutenção do vírus nos rebanhos. No período pré-vacinal, antes da vacina ganhar status comercial abrangente, o foco de prevenção e controle para circovirose consistia em redução do estresse nas criações e minimização das coinfeções. Entretanto, atualmente, há protocolos modernos, como descrito por Borah *et al.* (2024), que priorizam a

sanitização adequada das instalações, controle de vetores e do acesso às fazendas, com adequado protocolo de imunização de maneira conjunta, visando alcançar maior barreira de segurança contra o vírus na suinocultura.

Afolabi *et al.* (2023) avaliaram os fatores de risco da disseminação de PCV2, onde constataram que na ausência de medidas de biossegurança adotadas, como quarentena, controle de visitantes, controle de infecções, há maior probabilidade de ocorrer a disseminação viral. Além disso, os autores avaliaram os agrupamentos espaciais das granjas, indicando que a proximidade com fazendas infectadas facilita a transmissão, influenciando na dinâmica da doença nas regiões.

Dessa forma, percebe-se que apesar do caráter endêmico dentro das criações tecnificadas (Zanella; Morés; Barcellos, 2016), as boas práticas de produção e gestão ambiental, redução da densidade de animais no rebanho, melhoria da qualidade de estruturas e segurança higiênica podem reduzir a disseminação de PCV2.

Outro impacto a ser considerado na infecção por PCV2 nos rebanhos é a perda econômica nas criações que têm este patógeno disseminado. A detecção da positividade deste agente na pesquisa tanto no abate inspecionado quanto no não inspecionado possui um impacto direto nos rendimentos para os produtores, sejam registrados ou não.

A criação dos suínos, como atividade de produção de carne, depende de um bom desenvolvimento dos animais, o que para Gillespie *et al.* (2009), acaba tendo um custo maior por animal na presença de PCV2. Isso ocorre devido ao aumento da mortalidade nos rebanhos, baixa eficiência reprodutiva, taxa de refugo elevada, além de condenação de carcaças em linhas de abate devido a lesões como linfadenite necrozante.

Nesta pesquisa foi possível identificar a presença de dois genótipos de PCV2 na avaliação filogenética, genótipo A e genótipo B. Em relação à variabilidade genotípica para PCV2, atualmente, são reconhecidos nove genótipos diferentes para PCV2 (a - i), os quais possuem determinantes genéticos ligados à composição do genoma, sendo as variantes PCV2a, PCV2b e PCV2d distribuídos mundialmente (Franzo; Segalés, 2018; Wang *et al.*, 2020).

Em estudos no Brasil, já foi identificada a presença dos genótipos PCV2a, PCV2b, PCV2d em suínos domésticos e selvagens (De Castro *et al.*, 2008; Franzo *et al.*, 2015; Gava *et al.*, 2018; Miotto *et al.*, 2024; Rodrigues *et al.*, 2025). Um estudo retrospectivo realizado por Rodrigues *et al.* (2025), demonstrou a presença do genótipo PVC2d em amostras obtidas entre os anos de 1967 e 2018, constatando a presença da circulação desse genótipo viral antes da introdução da vacina no país.

A identificação do genótipo circulante em uma região se faz importante, uma vez que a virulência deste patógeno também está associada ao genótipo específico envolvido na infecção. PCV2a, PCV2b e PCV2d são os mais virulentos, sendo PCV2a e PCV2b identificados em circulação nesta pesquisa e PCV2d um importante genótipo dentro dos mecanismos de coinfeções (Oh *et al.*, 2022; Suh; Oh; Chae, 2023). Ressalta-se que, devido às condições da pesquisa, foi possível avaliação somente de 4 amostras em filogenia. Dessa forma, não é possível descartar a possibilidade de circulação dos demais genótipos de PCV2 no Maranhão.

As amostras avaliadas também apresentaram positividade para o agente *G. parasuis* (n = 6) e sabidamente havia 44 positivas para *M. hyopneumoniae*, analisado por Rodrigues *et al.* (2023), também sendo identificada uma única amostra com positividade para os três patógenos (PCV2 - *M. hyopneumoniae* - *G. parasuis*). Dessa maneira, este é o primeiro trabalho que apresenta a ocorrência de coinfeções por diferentes patógenos com PCV2 no Maranhão.

O percentual de 35,8% das amostras com PCV2 também apresentaram positividade *M. hyopneumoniae*. Opriessnig *et al.* (2004) e Seo *et al.* (2014) identificam essa combinação em uma correlação positiva significativa em rebanhos suínos, sendo comum encontrá-los em conjunto na avaliação de tecido pulmonar (Ruggeri *et al.*, 2020).

A coinfeção entre vírus e bactéria frequentemente é capaz de induzir ao agravamento de lesões pulmonares, por desenvolvimento de uma maior inflamação. Na avaliação deste padrão de coinfeção, observa-se um aumento da severidade das lesões originadas pela ação viral nos pulmões e nos tecidos linfoides. Essa ação sinérgica é observada em modelos experimentais de infecção sequencial – primeiro a inoculação bacteriana e na sequência a viral (Opriessnig *et al.*, 2004).

Seo *et al.* (2014) sugerem que, dessa forma, a presença de *M. hyopneumoniae* atua de forma que ocorre o aumento da viremia de PCV2. Entretanto, Sibila *et al.* (2012) observam que, em casos de inoculação simultânea, não há evidências de interações entre os agentes que potencializam o desenvolvimento das lesões. Nesse aspecto, a presença desses dois agentes etiológicos potencializa o risco para pneumonia causada pelo complexo das doenças respiratórias dos suínos.

Na avaliação de *G. parasuis*, foram observadas coinfeções com PCV2 e *M. hyopneumoniae*. Saade *et al.* (2020) na avaliação de interações entre agentes do complexo das doenças respiratórias dos suínos, classifica esta bactéria como patógeno secundário no agravamento da doença. Quando se trata da interação vírus-bactéria, os autores determinam

como de médio impacto. Entretanto, a presença de PCV2 nos rebanhos favorece a multiplicação de agentes bacterianos oportunistas (Opriessnig; Halbur, 2012).

Na pesquisa de *A. pleuropneumoniae*, não foram encontrados resultados positivos na amostragem estudada. Apesar desta bactéria ser um dos agentes comumente envolvidos no complexo respiratório dos suínos, seu isolamento e identificação podem ser comprometidos. Quando se trata de casos crônicos, a identificação do agente se torna mais dificultosa, sendo responsável por resultados negativos em culturas e pesquisa em lesões coletadas em abatedouros. Nesse estágio tardio, como coletado nesta pesquisa, a identificação do patógeno pode ser reduzida, como explicado por Stringer *et al.* (2022).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desta pesquisa detectaram a presença de dois agentes etiológicos do complexo das doenças respiratórias dos suínos, PCV2 e *G. parasuis*, além de apresentar coinfeções com *M. hyopneumoniae*. A alta taxa de positividade para PCV2 indica uma forte presença deste agente disseminado nos abates da Ilha do Maranhão, presente em diferentes modalidades (com e sem inspeção). O agente viral pode se multiplicar de maneira assintomática nos rebanhos, o que corrobora para sua permanência mesmo naquelas criações tecnificadas, com maiores índices de biossegurade.

A avaliação estatística da relação da positividade de PCV2 com as modalidades de abate demonstrou um nível de significância importante para os animais provenientes do abate não inspecionado na Ilha do Maranhão. Apesar da localização de coletas de amostras tenha sido na região da ilha, a origem desses animais não é determinada. Isso ocorre devido a alta movimentação clandestina de suínos no estado, onde não é possível determinar a origem destes nos municípios de São Luís, São José de Ribamar, Paço do Lumiar ou Raposa.

Dessa forma, pode-se inferir que a circulação deste agente viral está presente em mais regiões do estado, de maneira assintomática, o que reforça a importância do diagnóstico epidemiológico. O monitoramento através de estudos contínuos contribui para percepção real da infecção dentro do rebanho suíno maranhense.

Nesse contexto, observa-se uma lacuna de informações acerca da presença deste agente em outras cidades do Maranhão, sendo necessários mais estudos para fortalecer a vigilância epidemiológica no estado. Além disso, é importante a interação entre os setores privado e público, através do trabalho conjunto entre médicos veterinários autônomos e o Serviço Veterinário Oficial – SVO para detecção precoce de casos.

Entender a dinâmica de disseminação e coinfeções entre esses agentes respiratórios se faz importante esta avaliação de melhores medidas de manejo sanitário, principalmente com vistas a redução dos impactos da circovirose por seus impactos econômicos significativos dentro da atividade da suinocultura.

REFERÊNCIAS

- ACIOLY, T. *et al.* Caracterização e observações sobre a suinocultura familiar e seu papel no contexto rural da região Tocantina do Maranhão. **Revista Ensaios Pioneiros**, v. 7, n. 1, 2023.
- AFOLABI, K. O. *et al.* Regional Cross-Sectional Based Study and Associated Risk Factors of Porcine Circovirus 2 in Nigerian Pigs. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 2023, n. 1, p. 9201177, 2023.
- ALARCÓN, L. V.; ALLEPUZ, A.; MATEU, E. Biosecurity in pig farms: a review. **Porcine Health Management**, v. 7, n. 1, p. 5, 2021.
- AN, T. *et al.* Molecular and cellular mechanisms for PRRSV pathogenesis and host response to infection. **Virus Research**, v. 286, p. 197980, 2020.
- ARAGON, V. *et al.* Correlation between clinico-pathological outcome and typing of *Haemophilus parasuis* field strains. **Veterinary Microbiology**, v. 142, n. 3-4, p. 387-393, 2010.
- ARENALES, A. *et al.* Histopathologic patterns and etiologic diagnosis of porcine respiratory disease complex in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 74, n. 03, p. 497-508, 2022.
- ASSAVACHEEP, P.; THANAWONGNUWECH, R. Porcine respiratory disease complex: Dynamics of polymicrobial infections and management strategies after the introduction of the African swine fever. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 1048861, 2022.
- BALESTRIN, E. *et al.* Molecular detection of respiratory coinfections in pig herds with enzootic pneumonia: a survey in Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 34, n. 2, p. 310-313, 2022.
- BARBOSA, C. N. *et al.* Perfil sorológico para circovírus suíno tipo 2 em granjas comerciais de suínos no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 815-820, 2008.
- BENFIELD, D. A. *et al.* Characterization of swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus (isolate ATCC VR-2332). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 4, n. 2, p. 127-133, 1992.
- BERA, B. C. *et al.* Detection and genetic characterization of porcine circovirus 3 (PCV3) in pigs in India. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 67, n. 3, p. 1062-1067, 2020.
- BETLACH, A. M. *et al.* *Mycoplasma hyopneumoniae* variability: current trends and proposed terminology for genomic classification. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 66, n. 5, p. 1840-1854, 2019.
- BLACKALL, P. J.; TURNI, C. Understanding the virulence of *Haemophilus parasuis*. **Veterinary Journal**, v. 198, n. 3, p. 549-550, 2013.

BORAH, D. *et al.* Porcine Circovirus Diseases: Current Insights and Future Strategies for Effective Control, with a Focus on Porcine Circovirus 2 (PCV2). **Microbiology Research Journal International**, v. 34, n. 12, p. 283-298, 2024.

BOSSÉ, J. T. *et al.* *Actinobacillus pleuropneumoniae*: pathobiology and pathogenesis of infection. **Microbes and infection**, v. 4, n. 2, p. 225-235, 2002.

BOUCHET, B. *et al.* Studies on the interactions of *Haemophilus parasuis* with porcine epithelial tracheal cells: limited role of LOS in apoptosis and pro-inflammatory cytokine release. **Microbial Pathogenesis**, v. 46, n. 2, p. 108-113, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013. Altera a lista de doenças passíveis da aplicação de medidas de defesa sanitária animal, previstas no art. 61 do Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 set. 2013.

BURRAI, G. P. *et al.* The Synergic Role of Emerging and Endemic Swine Virus in the Porcine Respiratory Disease Complex: Pathological and Biomolecular Analysis. **Veterinary Sciences**, v. 10, n. 10, p. 595, 2023.

CEZAR, G. *et al.* Using diagnostic data from veterinary diagnostic laboratories to unravel macroepidemiological aspects of porcine circoviruses 2 and 3 in the United States from 2002–2023. **PloS one**, v. 19, n. 12, p. e0311807, 2024.

CHAE, C. Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae*. **The Veterinary Journal**, v. 212, p. 1-6, 2016.

COSTA-HURTADO, M. *et al.* VtaA8 and VtaA9 from *Haemophilus parasuis* delay phagocytosis by alveolar macrophages. **Veterinary Research**, v. 43, n. 1, p. 57, 2012.

COSTA-HURTADO, M.; ARAGON, V. Advances in the quest for virulence factors of *Haemophilus parasuis*. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 3, p. 571-576, 2013.

DARWICH, L.; MATEU, E. Immunology of porcine circovirus type 2 (PCV2). **Virus Research**, v. 164, n. 1-2, p. 61-67, 2012.

DE CASTRO, A. M. M. G. *et al.* Molecular diversity of Brazilian strains of porcine circovirus type 2 (PCV-2). **Research in veterinary science**, v. 85, n. 1, p. 197-200, 2008.

DE MIRANDA, L. G; DA SILVA, E. B. Afecções respiratórias na espécie suína decorrentes do sistema de criação intensivo: Revisão. **Pubvet**, v. 17, n. 05, p. e1384-e1384, 2023.

DE SOUZA, A. E. *et al.* Molecular detection of porcine circovirus (PCV2 and PCV3), torque teno swine virus 1 and 2 (TTSuV1 and TTSuVk2), and histopathological findings in swine organs submitted to regular slaughter in Southeast, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 45, p. e000623, 2023.

DE SOUZA, T. C. G. D. *et al.* *Mycoplasma hyopneumoniae* in free-living wild boars in Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 1581-1587, 2021.

- DEBEY, M. C.; ROSS, R. F. Ciliostasis and loss of cilia induced by *Mycoplasma hyopneumoniae* in porcine tracheal organ cultures. **Infection and Immunity**, v. 62, n. 12, p. 5312-5318, 1994.
- DHINDWAL, S. *et al.* Porcine circovirus 2 uses a multitude of weak binding sites to interact with heparan sulfate, and the interactions do not follow the symmetry of the capsid. **Journal of Virology**, v. 93, n. 6, p. 10.1128/jvi.02222-18, 2019.
- DICKERMAN, A.; BANDARA, A. B.; INZANA, T. J. Phylogenomic analysis of *Haemophilus parasuis* and proposed reclassification to *Glaesserella parasuis*, gen. nov., comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 1, p. 180-186, 2020.
- DINH, P. X. *et al.* Porcine circovirus genotypes and their copathogens in pigs with respiratory disease in southern provinces of Vietnam. **Archives of Virology**, v. 166, n. 2, p. 403-411, 2021.
- DOKLAND, T. The structural biology of PRRSV. **Virus Research**, v. 154, n. 1-2, p. 86-97, 2010.
- DUQUE, P. R. *et al.* Serological survey of porcine circovirus 2 antibodies in Northeastern Brazil by immunoperoxidase monolayer assay. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, p. 345-350, 2020.
- FABLET, C. *et al.* Bacterial pathogens associated with lung lesions in slaughter pigs from 125 herds. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 2, p. 627-630, 2012.
- FANG, K. *et al.* Epidemiological and genetic characteristics of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in South China between 2017 and 2021. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 853044, 2022.
- FANO, E. *et al.* Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization at weaning on disease severity in growing pigs. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 71, n. 3, p. 195, 2007.
- FEHÉR, E.; JAKAB, F.; BÁNYAI, K. Mechanisms of circovirus immunosuppression and pathogenesis with a focus on porcine circovirus 2: a review. **Veterinary Quarterly**, v. 43, n. 1, p. 1-18, 2023.
- FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783-791, 1985.
- FERREIRA, H. A. *et al.* Condições de criação do suíno baixadeiro, animal localmente adaptado à microrregião da Baixada Maranhense. **International Journal of Development Research**, v. 11, n. 4, p. 46166-46171, abr. 2021.
- FERREIRA, M. M. *et al.* Co-infections by *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis* and *Mycoplasma flocculare* in macroscopic lesions of lung consolidation of pigs at slaughter. **Veterinary Microbiology**, v. 258, p. 109123, 2021.

- FRANZO, G. *et al.* Genetic characterisation of Porcine circovirus type 2 (PCV2) strains from feral pigs in the Brazilian Pantanal: An opportunity to reconstruct the history of PCV2 evolution. **Veterinary Microbiology**, v. 178, n. 1-2, p. 158-162, 2015.
- FRANZO, G.; SEGALÉS, J. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. **PLoS One**, v. 13, n. 12, p. e0208585, 2018.
- FURLONG, S. L.; TURNER, A. J. Isolation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and its association with pneumonia of pigs in Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 51, n. 1, p. 28-31, 1975.
- GALINDO-BARBOZA, A. J. *et al.* Molecular positivity of Porcine Circovirus Type 2 associated with production practices on farms in Jalisco, Mexico. **Viruses**, v. 16, n. 10, p. 1633, 2024.
- GAO, Y. *et al.* Genomic composition and pathomechanisms of porcine circoviruses: a review. **Virulence**, v. 15, n. 1, p. 2439524, 2024.
- GAVA, D. *et al.* Structure analysis of capsid protein of Porcine circovirus type 2 from pigs with systemic disease. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, n. 2, p. 351-357, 2018.
- GILLESPIE, J. *et al.* Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 23, n. 6, p. 1151-1163, 2009.
- GOMES-GONÇALVES, S. *et al.* Detection of PCV2d in pig industry of the Iberian Peninsula. **Veterinary Research Communications**, v. 49, n. 5, p. 296, 2025.
- GOTTSCHALK, M.; LACOUTURE, S. Canada: Distribution of *Streptococcus suis* (from 2012 to 2014) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (from 2011 to 2014) serotypes isolated from diseased pigs. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 56, n. 10, p. 1093, 2015.
- HANSEN, M. J. *et al.* Occurrence of Pasteurellaceae bacteria in the oral cavity of selected marine mammal species. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, p. 828-835, 2012.
- HENRIQUE, A. M. *et al.* Development and validation of a real-time PCR for the detection and quantification of porcine circovirus type 2. **Virus Disease**, v. 29, n. 3, p. 355-361, 2018.
- HILLEN, S. *et al.* Occurrence and severity of lung lesions in slaughter pigs vaccinated against *Mycoplasma hyopneumoniae* with different strategies. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 113, n. 4, p. 580-588, 2014.
- HOELTIG, D. *et al.* A novel Respiratory Health Score (RHS) supports a role of acute lung damage and pig breed in the course of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection. **BMC Veterinary Research**, v. 5, n. 1, p. 14, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Tabela 3939 - Efetivo de rebanho, por tipo de rebanho: Suínos - Brasil e Unidades da Federação.** Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA, 2024. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>.

- KAMP, E. M. *et al.* Production of Apx toxins by field strains of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Actinobacillus suis*. **Infection and Immunity**, v. 62, n. 9, p. 4063-4065, 1994.
- KEDKOVID, R. *et al.* Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC). **Veterinary Microbiology**, v. 215, p. 71-76, 2018.
- KIELSTEIN, P.; RAPP-GABRIELSON, V. J. Designation of 15 serovars of *Haemophilus parasuis* on the basis of immunodiffusion using heat-stable antigen extracts. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 4, p. 862-865, 1992.
- KIM, S. W. *et al.* Current status of global pig production: an overview and research trends. **Animal Bioscience**, v. 37, n. 4, p. 719, 2024.
- KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of molecular evolution**, v. 16, n. 2, p. 111-120, 1980.
- KUMAR, S. *et al.* MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular biology and evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547-1549, 2018.
- LEAL ZIMMER, F. M. A. *et al.* Pathogenicity & virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Virulence**, v. 11, n. 1, p. 1600-1622, 2020.
- LEWIS, P. A.; SHOPE, R. E. Swine influenza: II. A hemophilic bacillus from the respiratory tract of infected swine. **The Journal of experimental medicine**, v. 54, n. 3, p. 361, 1931.
- LI, L. *et al.* Catecholamines promote *Actinobacillus pleuropneumoniae* growth by regulating iron metabolism. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0121887, 2015.
- LIMA, A. C. A. *et al.* Detection of anti-*Mycoplasma hyopneumoniae* antibodies in backyard pigs in the state of Paraná, Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, p. 10406387241265986, 2024.
- LIMA, A. C. A. *et al.* Detection of anti-*Mycoplasma hyopneumoniae* antibodies in backyard pigs in the state of Paraná, Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 36, n. 6, p. 907-909, 2024.
- LIPPKE, R. T. *et al.* Assessment of sow herd frequency of PCV-2 using placental umbilical cord serum and serology in 18 breeding farms in Brazil. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 11, p. 1368644, 2024.
- LUNNEY, J. K. *et al.* Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): pathogenesis and interaction with the immune system. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 4, n. 1, p. 129-154, 2016.
- MAES, D. *et al.* Perspectives for improvement of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines in pigs. **Veterinary Research**, v. 52, n. 1, p. 67, 2021.

- MAES, D. *et al.* Review on the methodology to assess respiratory tract lesions in pigs and their production impact. **Veterinary research**, v. 54, n. 1, p. 8, 2023.
- MAES, D. *et al.* Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: knowledge gaps for improved disease control. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, p. 110-124, 2018.
- MAITY, H. K. *et al.* Revisiting porcine circovirus infection: recent insights and its significance in the piggery sector. **Vaccines**, v. 11, n. 8, p. 1308, 2023.
- MALCHER, C. S. *et al.* Health–Economic Impact Attributable to Occurrence of Pleurisy and Pneumonia Lesions in Finishing Pigs. **Veterinary Sciences**, v. 11, n. 12, p. 668, 2024.
- MASSA, R. *et al.* Situação atual da disseminação do vírus da síndrome reprodutiva respiratória em suínos (PRRSV) no mundo e os perigos de introdução no Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA**, v. 8, n. 2, p. 112-131, 2014.
- MENG, X. Porcine circovirus type 2 (PCV2): pathogenesis and interaction with the immune system. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 1, n. 1, p. 43-64, 2013.
- MERIALDI, G. *et al.* Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors. **The Veterinary Journal**, v. 193, n. 1, p. 234-239, 2012.
- MIOTTO, R. *et al.* Porcine Circovirus Type 2 Genotypes and PCV3 in Swine Clinical Samples From Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 25, p. 77826E, 2024.
- MULLINS, M. A. *et al.* *Haemophilus parasuis* exhibits IgA protease activity but lacks homologs of the IgA protease genes of *Haemophilus influenzae*. **Veterinary Microbiology**, v. 153, n. 3-4, p. 407-412, 2011.
- MURRAY, G. M. *et al.* The bovine paranasal sinuses: Bacterial flora, epithelial expression of nitric oxide and potential role in the in-herd persistence of respiratory disease pathogens. **PLoS One**, v. 12, n. 3, p. e0173845, 2017.
- NASCIMENTO, E. R. M. *et al.* Identificação e distribuição dos agentes causadores da pleurisia na suinocultura brasileira. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1590, p. 1-8, 2018.
- NATHUES, H. *et al.* Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in nasal swabs sampled from pig farmers. **The Veterinary Record**, v. 170, n. 24, p. 623, 2012.
- NAUWYNCK, H. J. *et al.* Cell tropism and entry of porcine circovirus 2. **Virus research**, v. 164, n. 1-2, p. 43-45, 2012.
- NAYAR, G. P.; HAMEL, A.; LIN, L. Detection and characterization of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 38, n. 6, p. 385, 1997.

- NETA, D. S. C. *et al.* Caracterização do fluxo suinícola no município de São Luís do Maranhão nos anos de 2016 a 2018. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 29312-29325, 2020.
- NEUMANN, E. J. *et al.* Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 3, p. 385-392, 2005.
- NI, H. *et al.* Prevalence of *Haemophilus parasuis* “*Glaesserella parasuis*” in pigs in China: A systematic review and meta-analysis. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 182, p. 105083, 2020.
- OH, T. *et al.* Virulence comparison of four porcine circovirus type 2 (PCV2) genotypes (2a, 2b, 2d and 2e) in pigs single-infected with PCV2 and pigs dual-infected with PCV2 and *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 199, p. 88-98, 2022.
- OLIVEIRA, S.; GALINA, L.; PIJOAN, C. Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parasuis* infections. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, n. 6, p. 495-501, 2001.
- OLIVEIRA, S.; PIJOAN, C. *Haemophilus parasuis*: new trends on diagnosis, epidemiology and control. **Veterinary microbiology**, v. 99, n. 1, p. 1-12, 2004.
- OLVERA, Alexandre *et al.* Differences in phagocytosis susceptibility in *Haemophilus parasuis* strains. **Veterinary research**, v. 40, n. 3, p. 24, 2009.
- OPRIESSNIG, T. *et al.* Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. **Virus Research**, v. 286, p. 198044, 2020.
- OPRIESSNIG, T.; GIMÉNEZ-LIROLA, L. G.; HALBUR, P. G. Polymicrobial respiratory disease in pigs. **Animal Health Research Reviews**, v. 12, n. 2, p. 133-148, 2011.
- OPRIESSNIG, T.; HALBUR, P. G. Concurrent infections are important for expression of porcine circovirus associated disease. **Virus Research**, v. 164, n. 1-2, p. 20-32, 2012.
- OPRIESSNIG, T.; LANGOHR, I. Current state of knowledge on porcine circovirus type 2-associated lesions. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 1, p. 23-38, 2013.
- PATTISON, I. H.; HOWELL, D. G.; ELLIOT, J. A *Haemophilus* like organism isolated from pig lung and the associated pneumonic lesions. **Journal of Comparative Pathology**, v. 67, 1957.
- PHAN, T. G. *et al.* Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. **Virology Journal**, v. 13, p. 1-8, 2016.
- POHL, S. *et al.* Transfer of *Haemophilus pleuropneumoniae* and the *Pasteurella haemolytica*-like organism causing porcine necrotic pleuropneumonia to the genus *Actinobacillus* (*Actinobacillus pleuropneumoniae* comb. nov.) on the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 510-514, 1983.

- PONTES, N. E. *et al.* Development and evaluation of single-tube nested PCR (STNPCR) for the detection of porcine circovirus type 2 (PCV2). **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 61, n. 3, p. 233-238, 2014.
- RAMAMOORTHY, S.; MENG, X. Porcine circoviruses: a minuscule yet mammoth paradox. **Animal Health Research Reviews**, v. 10, n. 1, p. 1-20, 2009.
- RAUTIAINEN, E. *et al.* Varying effects of infections with *Mycoplasma hyopneumoniae* on the weight gain recorded in three different multisource fattening pig herds. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 47, n. 6, p. 461-469, 2000.
- RAZIN, S.; YOGEV, D.; NAOT, Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 4, p. 1094-1156, 1998.
- ROCHA, S. F.; OTTATI, A. M. A. A.; CAMPOS, R. T. Produção de caprinos e suínos nos municípios de São Luís, Paço do Lumiar e São José de Ribamar. **Revista de Política Agrícola**, Ano XXVII, n. 1, p. 22-36, jan./fev./mar. 2018.
- RODRIGUES, I. L. F. *et al.* Porcine circovirus type 2 (PCV2) in Brazil in the past 55 years (1967-2022): evolutionary rates and patterns. **Archives of Virology**, v. 170, n. 5, p. 97, 2025.
- RODRIGUES, O. A. F. *et al.* Real-time PCR quantification and histopathological findings of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in the lungs of pigs slaughtered in São Luís, Maranhão, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 43, p. e07233, 2023.
- ROPPA, L.; DUARTE, M. E.; KIM, S. W. Pig production in Latin America. **Animal Bioscience**, v. 37, n. 4, p. 786, 2024.
- RUGGERI, J. *et al.* Association between infectious agents and lesions in post-weaned piglets and fattening heavy pigs with porcine respiratory disease complex (PRDC). **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 636, 2020.
- SAADE, G. *et al.* Coinfections and their molecular consequences in the porcine respiratory tract. **Veterinary Research**, v. 51, n. 1, p. 80, 2020.
- SALOGNI, C. *et al.* Causes of swine polyserositis in a high-density breeding area in Italy. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 32, n. 4, p. 594-597, 2020.
- SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 74, p. 5463-5467, 1977.
- SANTOS, G. G. *et al.* Análise espacial das principais produções agropecuárias do estado do Maranhão. In: **AGRONEGÓCIO: técnicas, inovação e gestão**. São Paulo: Editora Científica, 2021. Cap. 21, p. 287-302.
- SANTOS, I. P. *et al.* Agricultura familiar no Maranhão: uma breve análise do censo agropecuário 2017. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 51, n. Suplemento Especial, p. 55-70, 2020.
- SARAIVA, L. Q. *et al.* Caracterização da suinocultura maranhense. In: **ZOOTECNIA: Tópicos atuais em pesquisa**. Editora Científica Digital, 2022. p. 70-79.

SÁRKÖZI, R.; MAKRAI, L.; FODOR, L. Identification of a proposed new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 16. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 63, n. 4, p. 444-450, 2015.

SASSU, E. L. *et al.* Update on *Actinobacillus pleuropneumoniae*—knowledge, gaps and challenges. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, p. 72-90, 2018.

SCHUWERK, L. *et al.* Sero-and apx-typing of German *Actinobacillus pleuropneumoniae* field isolates from 2010 to 2019 reveals a predominance of serovar 2 with regular apx-profile. **Veterinary Research**, v. 52, n. 1, p. 10, 2021.

SEGALÉS, J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. **Virus Research**, v. 164, n. 1-2, p. 10-19, 2012.

SEO, H. W. *et al.* Interaction of porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines on dually infected pigs. **Vaccine**, v. 32, n. 21, p. 2480-2486, 2014.

SIBILA, M. *et al.* Simultaneous porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* co-inoculation does not potentiate disease in conventional pigs. **Journal of Comparative Pathology**, v. 147, n. 2-3, p. 285-295, 2012.

SILVA, C. M. *et al.* Caracterização da produção pecuária da agricultura familiar maranhense. In: **MANEJO, nutrição e produção animal: tópicos atuais em pesquisa**. Editora Científica Digital, 2023. p. 11-25.

SILVA, T. M. D. *et al.* **Aspectos demográficos da pecuária no Maranhão, Brasil**. Atena Editora, 2023.

SOSA, C. *et al.* Genetic diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* in Mendoza province. **Revista argentina de microbiología**, v. 51, n. 3, p. 229-233, 2019.

STÄRK, K. D. C. Epidemiological investigation of the influence of environmental risk factors on respiratory diseases in swine—a literature review. **The Veterinary Journal**, v. 159, n. 1, p. 37-56, 2000.

STÄRK, K. D. C.; NICOLET, J.; FREY, J. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* by air sampling with a nested PCR assay. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 2, p. 543-548, 1998.

STEUBER, S.; ABDEL-RADY, A.; CLAUSEN, P. H. PCR-RFLP analysis: a promising technique for host species identification of blood meals from tsetse flies (Diptera: Glossinidae). **Parasitology Research**, v. 97, p. 247-254, 2005.

STRAIT, E. L. *et al.*, E. L. Real-time PCR assays to address genetic diversity among strains of *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 46, n. 8, p. 2491-2498, 2008.

STRINGER, O. W. *et al.* JMM Profile: *Actinobacillus pleuropneumoniae*: a major cause of lung disease in pigs but difficult to control and eradicate. **Journal of Medical Microbiology**, v. 71, n. 3, p. 001483, 2022.

- STYGAR, A. H. *et al.* Economic value of mitigating *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in pig fattening herds. **Agricultural Systems**, v. 144, p. 113-121, 2016.
- SUH, J.; OH, T.; CHAE, C. Virulence comparison of 4 porcine circovirus type 2 (PCV-2) genotypes: 2a, 2b, 2d, and 2e with a single infection and co-infection with PCV-2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 87, n. 1, p. 41-50, 2023.
- SUN, Q. *et al.* Investigation and analysis of etiology associated with porcine respiratory disease complex in China from 2017 to 2021. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 960033, 2022.
- SUN, X. *et al.* An improved multiplex PCR for *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Glaesserella australis* and *Pasteurella multocida*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 191, p. 106360, 2021.
- TAMIOZZO, P. J. *et al.* Monitoramento da presença de *Mycoplasma hyopneumoniae* em granjas de suínos durante a implementação de programas de erradicação. **Ciência Rural**, v. 41, p. 699-705, 2011.
- THACKER, E. L. *et al.* *Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 620-627, 1999.
- THACKER, E. L. Immunology of the porcine respiratory disease complex. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 17, n. 3, p. 551-565, 2001.
- TISCHER, I. *et al.* Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. **Archives of Virology**, v. 91, p. 271-276, 1986.
- TOBIAS, T. J. *et al.* Transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* among weaned piglets on endemically infected farms. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 117, n. 1, p. 207-214, 2014.
- VICENTE, A. F. *et al.* Soropositividade para *Mycoplasma hyopneumoniae* em suínos abatidos em frigoríficos da região central do estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 1899-1903, 2013.
- WANG, Y. *et al.* Genetic diversity and prevalence of porcine circovirus type 3 (PCV3) and type 2 (PCV2) in the Midwest of the USA during 2016–2018. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 67, n. 3, p. 1284-1294, 2020.
- WU, Y. *et al.* Genotyping and biofilm formation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and their association with virulence. **Veterinary Research**, v. 53, n. 1, p. 95, 2022.
- XIAO, Q. *et al.* Frequency and Genetic Analysis of Porcine Circovirus Type 2, Which Circulated between 2014 and 2021 in Jiangsu, China. **Animals**, v. 14, n. 19, p. 2882, 2024.
- XU, C. *et al.* Involvement of lipooligosaccharide heptose residues of *Haemophilus parasuis* SC096 strain in serum resistance, adhesion and invasion. **The Veterinary Journal**, v. 195, n. 2, p. 200-204, 2013.

ZADOKS, R. N.; SCHUKKEN, Y. H. Use of molecular epidemiology in veterinary practice. **The Veterinary clinics of North America: Food animal practice**, v. 22, n. 1, p. 229, 2006.

ZANELLA, J. R. C.; MORÉS, N.; BARCELLOS, D. E. S. N. Principais ameaças sanitárias endêmicas da cadeia produtiva de suínos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 05, p. 443-453, 2016.

ZHANG, B. *et al.* Update on the pathogenesis of *Haemophilus parasuis* infection and virulence factors. **Veterinary Microbiology**, v. 168, n. 1, p. 1-7, 2014.

ZHANG, H. *et al.* Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as Porcine circovirus 4, Hunan province, China. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 67, n. 3, p. 1057-1061, 2020.

ZHU, Y. *et al.* Research progress into the principles and methods underlying capsular typing of *Glaesserella parasuis*. **Veterinary Research**, v. 55, n. 1, p. 137, 2024.