

Impacto do uso de antimicrobianos na resposta imunológica pós-vacinal contra *Lawsonia intracellularis* em leitões

Submitted: 09/03/2025

Accepted: 16/07/2025

Eliane Maria Engelsing Fonseca^{1*}, João Xavier de Oliveira Filho¹, Daiane Gullich Donin², Alice Nogueira de Jesus², Amanda Gabrielle de Souza Daniel¹, Bruna Cristina Kuhn Gomes¹, César Feronato¹, Rafael Frandoloso³, Geraldo Camilo Alberton²

¹MSD Saúde Animal, Avenida Doutor Chucri Zaidan, 296, 12º Andar, São Paulo – SP, Brasil, CEP: 04583-110, <https://orcid.org/0009-0003-5059-4361>, <https://orcid.org/0000-0002-4774-9081?lang=pt>, <https://orcid.org/0000-0001-5021-3651>, <https://orcid.org/0000-0002-7695-8667>, <https://orcid.org/0009-0003-5671-9348>

²Federal University of Paraná (UFPR), Rua Pioneiro, 2153 - Dallas, Palotina - PR, Brasil, CEP: 85950-000 <https://orcid.org/0000-0002-7022-4400>, <https://orcid.org/0009-0007-4473-3600>, <https://orcid.org/0000-0001-6220-092X>

³University of Passo Fundo (UPF), BR 285 Km 292,7 | Campus I, Bairro São José - São José, Passo Fundo - RS, Brasil, CEP: 99052-900, <https://orcid.org/0000-0002-3361-2420>

Autor para correspondência: Eliane Maria Engelsing Fonseca – eliane.engelsing@merck.com

Resumo: O uso profilático e metafilático de antimicrobianos é comum na suinocultura brasileira. Algumas moléculas podem influenciar a resposta imunológica quando administradas com vacinas. Este estudo avaliou o impacto de antimicrobianos na resposta de anticorpos à vacina contra *Lawsonia intracellularis* (Porcilia® Ileitis). Foram analisados 144 leitões desmamados, divididos em 9 grupos: G1 (não vacinado), G2 (vacinado sem antimicrobianos) e sete grupos vacinados e tratados com diferentes antimicrobianos (G3 - ceftiofur; G4 - tildipiroxina; G5 - tulatromicina; G6 - amoxicilina; G7 - doxiciclina; G8 - florfenicol; G9 - tiamulina). Os animais foram vacinados aos 30 dias de vida. Amostras de soro foram coletadas antes (D0) e após a vacinação (D7, D14, D21, D28 e D35) e analisadas por citometria de fluxo para medir IgG anti-*L. intracellularis*. A análise estatística (ANOVA de duas vias) mostrou que os níveis de IgG no D35 foram significativamente menores ($p < 0,001$) nos grupos tratados com ceftiofur (G3), doxiciclina (G7) e tulatromicina (G5) em comparação ao grupo G2. Em contraste, amoxicilina (G6), florfenicol (G8), tiamulina (G9) e tildipiroxina (G4) não afetaram os níveis de anticorpos. O efeito negativo mais intenso (redução de 41,15% nos níveis de IgG) foi encontrado no grupo G3, tratado com ceftiofur. Nossos resultados demonstraram que o uso de alguns antibióticos durante o desenvolvimento da resposta imune humoral adaptativa pode afetar a potência sorológica de vacinas imunogênicas. Este efeito negativo pode ser especialmente importante em vacinas cuja resposta de anticorpos precisa de atingir o seu nível máximo nas fases iniciais da fase de creche.

Palavras-chave: Antimicrobianos, vacina, *Lawsonia intracellularis*, suinocultura, imunidade humoral.

1. Introdução

No Brasil, o uso de antimicrobianos é comum em todas as fases da produção suinícola. Um levantamento realizado em 25 propriedades de diferentes regiões do país revelou que os leitões foram expostos a antimicrobianos em 66,3% do período de vida, com variação entre granjas de 2,9% a 90,4%. Além disso, foram identificadas 26 moléculas diferentes na rotina produtiva (Dutra et al., 2021). As mais utilizadas foram amoxicilina (100%), tiamulina (88%), doxiciclina (72%), florfenicol (68%), ceftiofur (40%) e macrolídeos (48%).

O uso excessivo de antimicrobianos, além de contribuir para a resistência bacteriana, a contaminação ambiental e a presença de resíduos em produtos de origem animal (Barton 2014; Rabello et al., 2020), pode afetar a resposta imune pós-vacinal em suínos. Estudos demonstram que a administração concomitante de antimicrobianos no momento da vacinação pode impactar negativamente a resposta imunológica (Pomorska-Mól et al., 2014; 2015; 2016; 2019). No entanto, a maioria dessas pesquisas não avaliou vacinas amplamente utilizadas nos plantéis comerciais brasileiros.

Os estudos demonstram que a interação entre antimicrobianos e vacinas pode resultar em respostas imunológicas variáveis. Um mesmo antimicrobiano pode prejudicar a imunidade pós-vacinal quando associado a uma determinada vacina, mas apresentar um efeito diferente com outro antígeno (Woo et al., 1999). Portanto, compreender essas interações nas condições de granjas brasileiras é essencial para otimizar protocolos de manejo, garantindo a eficácia da imunização sem comprometer a prevenção e o tratamento de doenças.

Entre os principais agentes endêmicos nos rebanhos suínos brasileiros e do mundo, a Enteropatia Proliferativa Suína (EPS), causada por *Lawsonia intracellularis* (*L. intracellularis*), é um dos patógenos de maior relevância para os programas de controle sanitário na produção (Resende et al., 2015; Jansen et al., 2019; Konradt et al., 2020; Arnold et al., 2021). Consequentemente, o número de rebanhos vacinados contra esse agente tem aumentado significativamente (Observação pessoal). A imunização contra *L. intracellularis* ocorre a partir das três semanas de vida do leitão (Roerink et al., 2018; Jacobs et al., 2019, 2020), frequentemente associada ao uso de antimicrobianos para prevenção de doenças respiratórias e entéricas (Dutra et al., 2021). Diante disso, este estudo avalia o impacto dos principais antimicrobianos utilizados na rotina de granjas no Brasil sobre a resposta imunológica humoral pós-vacinal, com o objetivo de aprimorar a programação vacinal e medicamentosa para um controle mais eficiente da EPS.

2. Material e Métodos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná (CEUA/PR), sob o protocolo número 08-2022.

2.1. Amostragem

Foram utilizados 144 leitões provenientes de uma unidade comercial produtora de leitões desmamados, localizada no Oeste do Paraná, Brasil. Após o desmame, os leitões foram transferidos para a creche experimental do Setor de Suínos da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. O alojamento foi realizado por meio de randomização estratificada em 36 baías, com quatro animais por baia. Os animais foram distribuídos em nove grupos experimentais (G1 a G9), onde cada grupo composto por quatro baías, totalizando 16 animais por grupo. Os leitões tiveram acesso à água e alimento à vontade durante todo o experimento, recebendo apenas o tratamento conforme os grupos estabelecidos (**Tabela 1**). A interferência dos antimicrobianos na resposta humoral pós-vacinal foi avaliada por meio da detecção de IgG contra *L. intracellularis* em animais vacinados, com ou sem a administração de antimicrobianos. Os grupos foram definidos da seguinte forma: G1 (Controle negativo, não vacinado), G2 (Controle positivo, vacinado sem antimicrobianos) e sete grupos vacinados e tratados com diferentes antimicrobianos: G3 (ceftiofur), G4 (tildipiroxina), G5 (tulatromicina), G6 (amoxicilina), G7 (doxiciclina), G8 (florfénicol) e G9 (tiamulina).

2.2. Pesquisa de *Lawsonia intracellularis* nas fezes no dia 0 (D0) do experimento

Os leitões foram vacinados aos 30 dias de vida (D0 do experimento). Nesse momento, amostras fecais foram coletadas de todos os animais em sacos plásticos estéreis e armazenadas a -20°C para posterior análise por PCR, com o objetivo de verificar a presença de *L. intracellularis*. A coleta foi realizada por estimulação manual diretamente da ampola retal de dois animais por baia (N=88).

2.3. Coleta e análise de sangue

A coleta de sangue foi realizada por venopunção da veia jugular em todos os leitões nos dias experimentais 0 (antes da vacinação), 7, 14, 21, 28 e 35 pós-vacinação. As amostras foram enviadas ao laboratório AFK Imunotech para análise por PCR em Tempo Real, utilizando um conjunto de iniciadores específicos e reagentes da empresa Promega (*Go-Taq Probe qPCR Master Mix*). O DNA genômico foi extraído com o kit comercial *Magazorb DNA Mini-Prep Kit* (Promega).

| Grupo Experimental | Nº Animais | Vacinação contra Li* | Tratamento com Antimicrobiano | | |
|------------------------|------------|----------------------|-------------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| | | | Molécula (Dose) | Via de administração | Período de Fornecimento (D**) |
| G1 (Controle Negativo) | 16 | Não Vacinado | Sem Medicação | Não se aplica | Não se aplica |
| G2 (Controle Positivo) | 16 | Vacinado | Sem Medicação | Não se aplica | Não se aplica |
| G3 (AMOX) | 16 | Vacinado | Amoxicilina via ração (20 mg/kg) | in feed | D0 a D28 |
| G4 (CEF) | 16 | Vacinado | Ceftiofur injetável (IM, 1 mL/10kg) | in feed | D0, D10 e D20 |
| G5 (DOXI) | 16 | Vacinado | Doxiciclina via ração (20 mg/kg) | in feed | D0 a D28 |
| G6 (FLOR) | 16 | Vacinado | Flofenicol via ração (2 mg/kg) | in feed | D0 a D28 |
| G7 (TIAM) | 16 | Vacinado | Tiamulina via ração (10 mg/kg) | in feed | D0 a D28 |
| G8 (TILD) | 16 | Vacinado | Tildipiroxina (IM, 1 mL/10 kg) | Injetável | D0, D10 e D20 |
| G9 (TUL) | 16 | Vacinado | Tulatromicina (IM, 1 mL/ 40 kg) | Injetável | D0, D10 e D20 |

Tabela 1 – Descrição dos nove grupos experimentais e eventos do estudo sobre antimicrobianos e resposta humoral pós-vacinal.

Legendas – * Vacinação contra *Li* (*Lawsonia intracellularis*) = 2mL, IM no pescoço, Porcilis® Ileitis, MSD Saúde Animal; **D = Dias experimentais, onde momento da vacinação (D0) e após a vacinação (D10, D20 e D28); IM = Administração de antimicrobiano injetável pela via Intramuscular.

2.4. Produtos antimicrobianos utilizados nos grupos experimentais

Os produtos antimicrobianos utilizados nos tratamentos foram: Ceftiofur (*Ceftiomax*, Biogenesis Bagó, lote 014/20); Tildipiroxina (*Zuprevo*, MSD, lote 003/20); Tulatromicina (*Treoxin*, Farmabase, lote A21/0006); Amoxicilina (*Farmaxillin 50*, Farmabase, lote A20/0187); Doxiciclina (*Farmadox 50*, Farmabase, lote A20/0157); Florfénicol (*Nuflor*, MSD, lote 089/22 MF22899); e Tiamulina (*Suistin 50*, Vansil, lote 002/21).

2.5. Detecção de IgG para o antígeno de *Lawsonia intracellularis*

A presença de imunoglobulinas G específicas para o antígeno de *L. intracellularis* (IgG anti-Li) foi avaliada por citometria de fluxo, conforme descrito por Baldasso et al., 2023. As análises foram realizadas a partir das amostras de sangue coletadas nos diferentes momentos experimentais: D0, D7, D14, D21, D28 e D35.

2.6. Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 9.0. Para a análise dos resultados da citometria de fluxo, foram considerados os tratamentos, os momentos de avaliação e a resposta sorológica em cada unidade experimental. A comparação entre os grupos foi realizada por meio da ANOVA de duas vias, seguida do teste de Tukey para comparação múltipla. Diferenças estatisticamente significativas foram consideradas quando $p < 0,05$. Além disso, a comparação entre os grupos experimentais foi feita com base na diferença da média de sorologia entre os dias 28 e 0, bem como entre os dias 28 e 7.

3. Resultados

Antes do início do experimento, todos os animais testados apresentaram resultado negativo para *L. intracellularis* no exame de PCR, sem diferença estatística entre os grupos testados ($p>0,05$). Além disso, os níveis de IgG anti-*L. intracellularis* no D0 estavam em níveis basais em todos os animais avaliados (Figura 1), indicando que não houve infecção prévia nos grupos experimentais.

Os resultados da citometria de fluxo para detecção de IgG anti-*L. intracellularis* (Figura 1) mostram uma redução geral dos títulos de anticorpos entre D0 e D7. Posteriormente, observou-se uma tendência de aumento dos títulos ao longo do tempo. Houve diferença significativa nos níveis de IgG entre a primeira e a última semana, sugerindo um efeito positivo dos tratamentos aplicados. O grupo controle (G1 – não vacinado e não medicado) apresentou uma resposta distinta dos grupos vacinados e medicados, o que era esperado, pois não foi exposto ao agente nem à vacina.

Entre os grupos experimentais, os tratamentos com ceftiofur (G3) e tulatromicina (G5) resultaram na maior interferência negativa na resposta imune dos animais após a vacinação contra enteropatia proliferativa suína ($p<0,05$). Em contrapartida, os tratamentos com florfenicol (G8) e tildipiroxina (G4) não impactaram significativamente os níveis de IgG anti-*L. intracellularis*. Os grupos tratados com amoxicilina (G6), doxiciclina (G7) e tiamulina (G9) apresentaram redução significativa nos títulos de IgG apenas em momentos pontuais: D14 para G6 (AMOX), D21 para G9 (TIAM) e D14/D28 para G7 (DOXI). Já os grupos tratados com ceftiofur (G3) e tulatromicina (G5) mantiveram níveis reduzidos de IgG ao longo de todo o período experimental ($p<0,05$). Todos os grupos foram comparados com o modelo do estudo (G1 – controle negativo e G2 – controle vacinado).

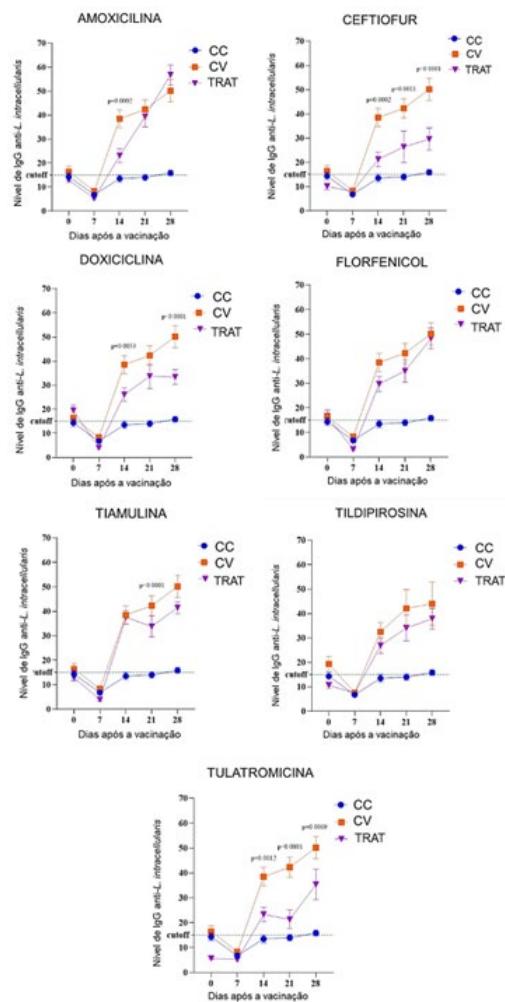


Figura 1 – Níveis de imunoglobulina G (IgG) para o antígeno de *Lawsonia intracellularis* para os grupos: G1 = controle negativo (CC); G2 = controle positivo - vacinado e não medicado (CV); Grupos vacinados e medicados com: G3 = Ceftiofur (CEF); G4 = Tildipiroxina (TILDI); G5 = Tulatromicina (TUL); G6 = Amoxicilina (AMOX); G7 = Doxiciclina (DOXI); G8 = Florfenicol (FLOR) e; G9 = Tiamulina (TIAM). A diferença significativa entre os grupos está indicada pelo p ($p<0,05$).

4. Discussão

O presente estudo demonstrou a interferência de sete antimicrobianos amplamente utilizados na suinocultura brasileira (amoxicilina, ceftiofur, doxiciclina, florfenicol, tiamulina, tildipiroxina e tulatromicina) sobre a resposta imune humoral pós-vacinal contra *L. intracellularis* em leitões na fase de creche. Até o momento, não há registros na literatura de estudos similares que avaliem a interação dessas moléculas com esse patógeno específico. Os resultados indicaram que amoxicilina, ceftiofur, doxiciclina,

tiamulina e tulatromicina impactaram negativamente a resposta humoral pós-vacinal, enquanto florfénicol e tildipirosina não apresentaram esse efeito adverso.

Assim como observado no presente estudo, pesquisas anteriores relataram um efeito negativo do ceftiofur na resposta imune pós-vacinal. Pomorska-Mól et al. (2015) demonstraram que a administração concomitante desse antimicrobiano com a vacina contra pseudoraiva comprometeu a resposta imune celular e humoral, reduzindo a produção de citocinas e anticorpos IgM específicos. Além disso, quando associado à vacinação contra influenza (Pomorska-Mól et al., 2015) e erisipela (Pomorska-Mól et al., 2016), o ceftiofur afetou negativamente a resposta humoral.

De forma semelhante, a associação da doxiciclina com a vacinação para pseudoraiva (Pomorska-Mól et al., 2014) e erisipela (Pomorska-Mól et al., 2016) resultou na redução da imunidade celular e humoral. Ainda, Pomorska-Mól et al. (2016) verificaram que a administração simultânea de tiamulina com a vacina contra erisipela reduziu os títulos de anticorpos. No presente estudo, os tratamentos com doxiciclina e tiamulina reduziram os níveis de IgG anti-*L. intracellularis* apenas nos dias D14 e D28 (doxiciclina) e D21 (tiamulina). A falta de um padrão homogêneo nos momentos avaliados sugere que outros fatores podem estar influenciando a resposta imune.

Dos sete antimicrobianos testados, apenas florfénicol e tildipirosina não interferiram na resposta imune humoral induzida pela vacinação contra *L. intracellularis*. No entanto, Khalifeh et al., 2009 relataram que o florfénicol prejudicou a produção de anticorpos contra a Doença de Newcastle quando administrado simultaneamente com a vacina em aves. Até o momento, não há relatos de interferência do florfénicol na resposta imune pós-vacinal de suínos.

A administração de amoxicilina em conjunto com a vacinação contra erisipela aumentou os títulos de anticorpos pós-vacinais, efeito semelhante ao observado com a tulatromicina, quando associada às vacinas contra erisipela (Pomorska-Mól et al., 2016) e influenza (Pomorska-Mól et al., 2019). No entanto, no presente estudo, a amoxicilina parece ter retardado a resposta imune à vacina contra *L. intracellularis*, resultando em níveis reduzidos de IgG apenas no D14, com recuperação posterior. Por outro lado, a tulatromicina reduziu os níveis de IgG anti-*L. intracellularis* entre os dias 14 e 28 após a vacinação.

A variabilidade na interferência dos antimicrobianos sobre a resposta imune pode estar relacionada às diferenças entre抗ígenos vacinais. Woo et al. (1999) avaliaram o efeito da claritromicina e da doxiciclina sobre a resposta imune de camundongos vacinados contra tétano, pneumococo, hepatite B e *Salmonella typhi*, e observaram que o impacto dos antimicrobianos variou conforme o抗ígeno testado. Esses achados reforçam a importância de avaliar individualmente a interação entre antimicrobianos e vacinas, uma vez que o efeito negativo de um antimicrobiano sobre uma vacina não pode ser generalizado para todas as formulações vacinais.

5. Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que a administração concomitante de determinados antimicrobianos pode interferir na resposta imune humoral induzida pela vacinação contra *Lawsonia intracellularis* em leitões. Entre as moléculas avaliadas, ceftiofur e tulatromicina promoveram as maiores reduções nos níveis de IgG específicos ao longo de todo o período experimental. Amoxicilina, doxiciclina e tiamulina também afetaram a resposta vacinal, embora com efeitos pontuais. Em contraste, florfénicol e tildipirosina não apresentaram impacto significativo na soroconversão. Esses achados destacam a relevância de se considerar potenciais interações entre antimicrobianos e vacinas na formulação de estratégias sanitárias, além de apontarem para a necessidade de novos estudos que explorem essas interações em diferentes contextos e sistemas produtivos.

Agradecimentos: Agradecemos a Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina por disponibilizar as instalações da creche experimental do setor de suínos, viabilizando a realização deste estudo. A MSD Saúde Animal – Brasil pelo fornecimento dos insumos, incluindo vacinas e antimicrobianos utilizados na pesquisa, bem como pela cessão de parte do tempo da colaboradora Eliane Maria Engelsing Fonseca para liderar e executar o estudo.

Conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse em relação à pesquisa, autoria e publicação deste artigo.

6. References

- Arnold M, Crienien A, Swam H, Berg SV, Jolie R, Nathues H. Correlation of *Lawsonia intracellularis* positivity in quantitative PCR and herd factors in European pig herds. *Porcine health management*, v. 7, n. 1, p. 1-8, 2021. (doi: 10.1186/s40813-021-00192-4)
- Baldasso DZ, Guizzo JA, Dazzi CC, Paraboni Frandoloso GC, Feronato C, von Berg S, Carvalho Guedes RM, Wilson HL, Kreutz LC, Frandoloso R. Development and validation of a flow cytometry antibody test for *Lawsonia intracellularis*. *Frontiers in Immunology*, 14, p.1332., 2023 (doi: 10.3389/fimmu.2023.1145072)
- Barton, MD. Impact of antibiotic use in the swine industry. *Current opinion in microbiology*, v. 19, p. 9-15, 2014.(doi: 10.1016/j.mib.2014.05.017)
- Dutra MC, Moreno LZ, Dias RA, Moreno AM. Antimicrobial use in Brazilian swine herds: Assessment of use and reduction examples. *Microorganisms*, v. 9, n. 4, p. 881, 2021. (doi: 10.3390/microorganisms9040881)
- Jacobs AAC, Harks F, Hazenberg L, Hoeijmakers MJH, Nell T, Pel S, Segers RPAM. Efficacy of a novel inactivated *Lawsonia intracellularis* vaccine in pigs against experimental infection and under field conditions. *Vaccine*, v. 37, n. 15, p. 2149-2157, 2019. (doi: 10.1016/j.vaccine.2019.02.067.)

- Jacobs AAC, Harks F, Pauwels R, Cao Q, Holtslag H, Pel S, Segers RPAM. Efficacy of a novel intradermal *Lawsonia intracellularis* vaccine in pigs against experimental infection and under field conditions. *Porcine Health Management*, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2020. (doi: 10.1186/s40813-020-00164-0)
- Jansen T, Weersink A, von Massow M, Poljak Z. Assessing the Value of Antibiotics on Farms: Modeling the Impact of Antibiotics and Vaccines for Managing *Lawsonia intracellularis* in Hog Production. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 6, p. 364, 2019. (doi: 10.3389/fvets.2019.00364)
- Khalifeh MS, Amawi MM, Abu-Basha EA, Yonis IB. Assessment of humoral and cellular-mediated immune response in chickens treated with tilmicosin, florfenicol, or enrofloxacin at the time of Newcastle disease vaccination. *Poultry Science*, v. 88, n. 10, p. 2118-2124, 2009. (doi: 10.3382/ps.2009-00215)
- Konradt G, Bassuino D, Siqueira LC, Bianchi MV, Sonne L, Driemeier D, Pavarini SP. Infectious diseases dynamics in growing/finishing pigs in Southern Brazil (2005-2016). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 40, p. 254-260, 2020. (doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6510)
- Pomorska-Mól M, Kwit K, Markowska-Daniel I, Pejsak Z. The effect of doxycycline treatment on the postvaccinal immune response in pigs. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 278, n. 1, p. 31-38, 2014. (doi: 10.1016/j.taap.2014.04.006)
- Pomorska-Mól M, Czyżewska-Dors E, Kwit K, Wierzchosławski K, Pejsak Z. Ceftiofur hydrochloride affects the humoral and cellular immune response in pigs after vaccination against swine influenza and pseudorabies. *BMC Veterinary Research*, v. 11, p. 1-8, 2015. (doi: 10.1186/s12917-015-0586-3)
- Pomorska-Mól M, Kwit K, Wierzchosławski K, Dors A, Pejsak Z. Effects of amoxicillin, ceftiofur, doxycycline, tiamulin and tulathromycin on pig humoral immune responses induced by erysipelas vaccination. *Veterinary Record*, v. 178, n. 22, p. 559-559, 2016. (doi: 10.1136/vr.103533)
- Pomorska-Mól M, Kwit K, Czyżewska-Dors E, Pejsak Z. Tulathromycin enhances humoral but not cellular immune response in pigs vaccinated against swine influenza. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2019 May;42(3):318-323. (doi: 10.1111/jvp.12742)
- Rabello RF, Bonelli RR, Penna BA, Albuquerque JP, Souza RM, Cerqueira AMF. Antimicrobial resistance in farm animals in Brazil: an update overview. *Animals*, v. 10, n. 4, p. 552, 2020. (doi: 10.3390/ani10040552)
- Resende TP, Pereira CE, Gabardo Mde P, Haddad JP, Lobato ZI, Guedes RM. Serological profile, seroprevalence and risk factors related to *Lawsonia intracellularis* infection in swine herds from Minas Gerais State, Brazil. *BMC Veterinary Research*, v. 11, n. 1, p. 1-6, 2015. (doi: 10.1186/s12917-015-0618-z)
- Roerink F, Morgan CL, Knetter SM, Passat MH, Archibald AL, Ait-Ali T, Strait EL. A novel inactivated vaccine against *Lawsonia intracellularis* induces rapid induction of humoral immunity, reduction of bacterial shedding and provides robust gut barrier function. *Vaccine*, v. 36, n. 11, p. 1500-1508, 2018. (doi: 10.1016/j.vaccine.2017.12.049)
- Woo PC, Tsui HW, Wong LP, Leung HC, Yuen KY. Antibiotics modulate vaccine-induced humoral immune response. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, v. 6, n. 6, p. 832-837, 1999. (doi: 10.1128/CDLI.6.6.832-837)
- Federal University of Viçosa, UFV. System of statistical and genetic analysis, SAEG. Version 8.0. Viçosa, MG, Brazil, 2000. 142p.
- Bacila M. Contribution to the study of glucose metabolism in erythrocytes of domestic animals. MSc Dissertation in Veterinary Sciences. Federal University of Paraná, Curitiba, 77p. 1989.
- Kozicki LE, Shibata FK. Progesterone profile in dairy cows in the puerperium period, determined by radioimmunoassay, RIA. In: 24th Brazilian Congress of Veterinary Medicine. Annals... Goiana Veterinary Society, Goiânia. 1996, pp. 106-107.