

Surtos de Enteropatia Proliferativa Hemorrágica (*Lawsonia intracelullaris*) em suínos no Estado do Rio de Janeiro¹

Ticiania N. França^{2,3}, Carlos T. Ribeiro⁴, Pedro S. Bezerra Jr⁵, Jürgen Döbereiner⁶, Valéria D. Cerqueira⁷ e Paulo V. Peixoto⁴

ABSTRACT.- França T.N., Ribeiro C.T., Bezerra P.S., Döbereiner J., Cerqueira V.D. & Peixoto P.V. 2008. [Outbreaks of Proliferative Haemorrhagic Enteropathy (*Lawsonia intracelullaris*) in swine in Rio de Janeiro state.] Surtos de Enteropatia Proliferativa Hemorrágica (*Lawsonia intracelullaris*) em suínos no Estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28(3):174-182. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, RJ 22783-320, Brazil. E-mail: ticianaf Franca@terra.com.br

Outbreaks of infection of swine with *Lawsonia intracelullaris* in the state of Rio de Janeiro are described. The symptomatology was characterized by bloody diarrhea with peracute course. Postmortem findings were pale organs and tissues, reticulate aspect of the ileum with its mucosa moderately thickened and contained large amounts of partially coagulated blood. Histopathological examination revealed hyperplastic epithelial cell proliferation of the Lieberkühn crypts, sometimes associated with inflammatory and necrotic alterations. Immunohistochemistry demonstrated the presence of large amounts of bacteria in the cytoplasm of the cryptal epithelial cells. *L. intracelullaris* was also seen by ultramicroscopic examination. These outbreaks occurred in 1987 and this is the first report of the disease in the state of Rio de Janeiro.

INDEX TERMS.- *Lawsonia intracelullaris*, Proliferative Haemorrhagic Enteropathy, swine, Rio de Janeiro.

RESUMO.- Descrevem-se surtos de Enteropatia Proliferativa Hemorrágica causados por *Lawsonia intracelullaris* em suínos no Estado do Rio de Janeiro. A sintomatologia caracterizou-se por diarreia sanguinolenta com evolução superaguda. À necropsia verificaram-se íleo de aspecto

reticulado, com mucosa moderadamente espessada e grande quantidade de sangue parcialmente coagulado, além de marcada palidez de órgãos e carcaça. O exame histológico revelou proliferação hiperplásica das células epiteliais das criptas de Lieberkühn, por vezes, associada a alterações inflamatórias e necróticas. A imunohistoquímica demonstrou presença da bactéria, em grande quantidade, dentro do citoplasma das células epiteliais das criptas. *L. intracelullaris* também foi visualizada pela ultramicroscopia. Os surtos ocorreram em 1987 e essa é a primeira descrição da enfermidade no Estado do Rio de Janeiro.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Lawsonia intracelullaris*, Enteropatia Proliferativa Hemorrágica, suínos, Rio de Janeiro.

INTRODUÇÃO

A Enteropatia Proliferativa Suína (EPS) é um termo utilizado, desde 1931, para identificar um complexo de doenças (Biestler & Schwarte 1931). Apesar deste longo período, apenas recentemente, devido, entre outros fatores, a

¹ Recebido em 13 de novembro de 2007.

Aceito para publicação em 10 de dezembro de 2007.

² Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, RJ 22783-320, Brasil. *Autor para correspondência: ticianaf Franca@terra.com.br

³ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Depto Cirurgia, Centro de Cirurgia Experimental, Bloco J, 2º andar, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ 21944-970.

⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000, Brasil.

⁵ Depto Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Cx. Postal 37, Lavras, MG 37200-000, Brasil.

⁶ Convênio "Projeto Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ", Seropédica, RJ 23890-000.

⁷ Escola de Medicina Veterinária, Campus Castanhal, Universidade Federal do Pará (UFPA), Rua Maximino Porpino 1000, Castanhal, PA 68743-080, Brasil.

dificuldades da manutenção do microorganismo *in vitro* (Gebhart et al. 1983, Dittmar et al. 2003), definiu-se *Lawsonia intracellularis* como seu agente etiológico (Lawson & Rowland 1974, Love et al. 1977, Gebhart et al. 1983, McOrist et al. 1989, Mapother et al. 1987). Atualmente, EPS é considerada a doença de maior importância econômica em diversas regiões suinocultoras na Europa (Jacobson et al. 2003), nos Estados Unidos, cujas perdas anuais eram estimadas entre 10 e 20 milhões de dólares (Mapother et al. 1987), no Japão (Koyama et al. 2006) e, ainda, no Brasil, onde foi detectada na Região Sul (Morés et al. 1985, Barcellos et al. 1992, Driemeier et al. 2002, Faccini et al. 2005).

São relativamente recentes os estudos epidemiológicos que descrevem *L. intracellularis* como causa de enfermidades em ampla variedade de hospedeiros como coelhos (Umemura et al. 1982, Duhamel et al. 1998, Schauer et al. 1998), cavalos (Cooper et al. 1997, Wuersch et al. 2006) e diversas espécies de aves e mamíferos silvestres (Cooper et al. 1997, Lemarchand et al. 1997).

Em suínos, o complexo EPS apresenta-se sob várias formas (Rowland & Lawson 1992) e inclui alterações descritas como *Adenomatose intestinal suína* (Biester & Schwarte 1931), *Enteropatia proliferativa hemorrágica* (Rowland & Lawson 1975), *Enterite necrótica* (Rowland & Lawson 1992) e *Ileíte regional* (Alderton 1993). A lesão comum a todas as formas é intensa hiperplasia dos enterócitos das criptas do íleo (principalmente), jejuno, ceco ou cólon. A presença de bacilos curvos ou retos no citoplasma apical dos enterócitos das criptas proliferadas é característica (McOrist et al. 1996). De forma geral, a EPS é considerada uma enfermidade silenciosa, porém associada a perdas econômicas significativas. O sintoma descrito como característico de doença crônica é a perda de peso lenta e progressiva, resultante da diarreia (Guedes et al. 2002a) ou da diminuição do apetite (Love et al. 1977). Em alguns casos, principalmente aqueles cujas alterações se estendem além da adenomatose, a doença cursa com sintomas adicionais de forma variada, como febre, associada a abortos (Mauch & Bilkei 2005) ou, simplesmente, morte súbita (Love et al. 1977). Essa variação pode ocorrer mesmo dentro de um rebanho (Jensen et al. 2000, McOrist 2005). O objetivo deste trabalho é descrever os aspectos clínico-patológicos de surtos de enteropatia proliferativa em suínos, ocorridos em 1987, no Estado do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos anátomo-patológicos foram realizados no Setor de Anatomia Patológica (SAP) e as avaliações bacteriológicas no Laboratório de Bacteriologia, ambos do Convênio "Projeto Sanidade Animal (PSA) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro" (Embrapa/UFRRJ), Km 47, Seropédica, RJ. Os exames imunohistoquímicos e ultraestruturais realizaram-se no Departamento de Patologia da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e no Setor de Microscopia

Quadro 1. Suínos encaminhados ao SAP, PSA-Embrapa/UFRRJ para diagnóstico anátomo-patológico

Suíno no.	Referência SAP	Data	Município
1	24187	19.3.1987	Petrópolis
2	24189	19.3.1987	Petrópolis
3	24202	11.4.1987	Petrópolis
4	24221	15.5.1987	Seropédica
5	24227	26.5.1987	Rio de Janeiro (Campo Grande)
6	24261	13.7.1987	Rio de Janeiro (Campo Grande)
7	24266	14.7.1987	Rio de Janeiro (Campo Grande)

Eletrônica do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria, respectivamente.

Sete suínos (Quadro 1), com idades entre 45 dias e 8 meses, de ambos os sexos, provenientes dos municípios de Petrópolis, Seropédica e Rio de Janeiro (Campo Grande) foram encaminhados ao SAP-PSA, para diagnóstico anátomo-patológico em 1987. Adicionalmente, em 20 de março de 1987, dois fetos suínos abortados foram submetidos a exame bacteriológico e, em 23 de março de 1987, uma porca adulta, doente, foi enviada para acompanhamento clínico; após 7 dias o animal teve alta.

Exame clínico. A porca enviada viva foi mantida em uma baia individual de alvenaria, com piso de cimento, medindo 2x2m, com bebedouro e comedouro. Recebeu ração comercial, duas vezes ao dia e água à vontade. Diariamente o animal foi avaliado com relação ao seu comportamento geral, apetite, fezes, bem como, suas freqüências cardíaca, respiratória e temperatura retal.

Necropsia. Os animais acima listados foram submetidos à necropsia (alguns foram eutanasiados *in extremis*) e fragmentos de diversos órgãos, principalmente, aqueles que apresentavam alterações, foram clivados em porções significativas com, no máximo, 0,5cm de espessura e fixados em formol a 10%.

Histopatologia. Após a fixação em formol a 10%, os fragmentos de órgãos foram desidratados em álcool etílico absoluto, tratados com xilol e depois embebidos e incluídos em parafina, cortados a 3-5 micrômetros, corados pela Hematoxilina-Eosina (HE), para serem analisados posteriormente. A coloração especial pelo Warthin-Starry também foi realizada.

Imunohistoquímica (IHQ). Amostras de intestino e linfonodo foram submetidas a técnica de IHQ (Guedes et al. 2002b) utilizando-se um anticorpo policlonal anti-*L. intracellularis* na diluição de 1:15.000, pelo método de avidina-biotina. O protocolo seguido para a imunohistoquímica incluiu: (1) bloqueio da atividade da peroxidase endógena pela incubação das lâminas em metanol com 3% de H₂O₂ por 15 minutos, (2) digestão prévia das lâminas em tripsina 0,1% por 15 minutos a 37°C, (3) irradiação em forno de microondas com as lâminas imersas em 100ml de tampão citrato pH 6, por 2 minutos, à potência máxima, atingindo 60°C, (4) redução de marcações inespecíficas pela incubação das lâminas em leite em pó desnatado 5% por 20 minutos, (5) aplicação do anticorpo primário policlonal anti-*L. intracellularis* durante 45 minutos a 37°C, (6) lavagem em solução PBS e (7) incubação com complexo avidina-biotinaperoxidase (ABC) por 40 minutos, em temperatura ambiente. A revelação da reação foi obtida utilizando-se diaminobenzidina (DAB) como cromógeno.

Microscopia eletrônica. Fragmentos de íleo dos suínos foram fixados em formol a 10%, lavados com buffer de sucrose a 5% (30 minutos x 3) a 4°C, pós-fixados com tetróxido de ósmio

Quadro 2. Achados clínicos e macroscópicos na infecção por *Lawsonia intracellularis* em suínos no Estado do Rio de Janeiro

Reg. ^a	Granjar/animal	Clínica	Intestino	Órgãos linfóides	Outros
24187	Petrópolis. Fêmea, 8 meses	Anorexia, mucosas marmóreas, morte 6h após início da diarreia; sangue escuro em região perianal	Duodeno: porção inicial coberta por muco-fibrina. Íleo com parede muito espessada; através da serosa observavam-se estriações vermelho-escuras, dando aspecto de mosaico (reticulado); sangue escuro e coágulos em forma cilíndrica na luz; mucosa irregular, espessada, vermelho intensa, com linhas deprimidas mais claras. Cólon espiral: muito distendido por gás; sangue escuro e coágulos na luz. Reto: conteúdo pastoso a semilíquido, vermelho-escuro. Placas de Peyer – mais vermelhas e evidentes	Linfonodos torácicos com petéquias	Estado geral bom. Carcaça e órgãos pálidos, com exceção do íleo e intestino grosso. Edema pulmonar; traquéia com espuma esbranquiçada; pneumonia focal com aderências em lobo caudal direito; coração com pequenas áreas esbranquiçadas (1-2mm) e petéquias; leve hidropericárdio; fígado mais pálido, com áreas com lobulação mais evidente e pontos avermelhados. Rins pálidos e com estriações avermelhadas na medula. Adrenal: medula avermelhada. Alguns músculos estriados levemente mais pálidos. Meninges congestas. Placenta com pequenas áreas levemente avermelhadas e focos amarelo-esverdeados, destes focos fluía líquido viscoso branco-amarelado. Fetos com aproximadamente 2 meses
24189	Petrópolis. Fêmea, 8 meses	Descrição clínica idêntica a 24.187	Duodeno sem alterações. Demais porções com lesões selhantes às do suíno 24.187, porém menos acentuadas	SA ^c	Estado geral bom. Leve edema pulmonar. Áreas mais pálidas (1-2mm) em coração e leve hidropericárdio. Fígado mais pálido, com pontos avermelhados em algumas áreas e lobulação mais evidente. Palidez e petéquias em diversas vísceras; numerosas áreas de congestão. Rins pálidos e com estriações avermelhadas na medula. Meninges congestas. Placenta com pequenas áreas levemente avermelhadas e focos amarelo-esverdeados. Fetos com aproximadamente 2 meses. Demais órgãos sem alterações
24202	Petrópolis. Fêmea, 8 meses	NO ^b	Porções do íleo com aspecto reticulado (mosaico) observadas através da serosa; mucosa levemente espessada e irregular, com franjas muito finas em sua superfície. Placas de Peyer muito evidentes, superfície rugosa com pontos mais elevados circundados por áreas deprimidas	Linfonodos mesentéricos aumentados, com aspecto de "couve-flor" e coloração ferruginosa nos seus subcapsulares e entre folículos	Coração com pequenas áreas mais claras
24221	Seropédica. Fêmea, 1 mês e meio	Animal se alimentou normalmente às 12:00h, à noite apresentou diarreia com sangue e foi encontrado morto pelo proprietário de manhã.	Íleo: serosa bastante espessada (edemaciada), facilmente destacável; através da serosa notava-se aspecto reticulado do íleo; sangue escuro, grandes coágulos em forma de cilindro e massas marron-amareladas na luz; mucosa avermelhada e espessada, com superfície irregular. Placas de Peyer não evidenciadas. Cólon distendido com conteúdo vermelho-escuro e mucosa avermelhada.	Linfonodos mesentéricos pouco aumentados	Coração com pequenas áreas mais claras
24227	Rio de Janeiro. Macho, 5 meses	Segundo o proprietário não houve diarreia; animais inquietos, gritam muito e morrem em poucas horas.	Intestino delgado: sangue coagulado e não-coagulado na luz.	SA	Demais órgãos sem alterações
24261	Rio de Janeiro. Macho, 100 dias	NO	Íleo: aspecto reticulado visto através da serosa; sangue escuro e pequenos coágulos na luz; mucosa levemente espessada e irregular, com franjas muito finas em sua superfície (aspecto de filigrana)	SA	Carcaça e mucosas muito pálidas. Coágulo preenchendo o estômago, úlcera perfurante próxima ao cárdia
24266	Rio de Janeiro. Macho, 4 meses	Normal no dia anterior, amanheceu em decúbito, com dificuldade de levantar-se	Duodeno: sem alterações. Íleo: aspecto reticulado (mosaico) através da serosa; parede espessada, principalmente na porção final; mucosa avermelhada e com estrias transversais; coágulos e sangue no lúmen. Ceco: sangue na luz; mucosa muito avermelhada.	Linfonodos mesentéricos muito aumentados, áreas avermelhadas	Carcaça e mucosas muito pálidas; áreas de cianose avermelhada. Fígado: congesto. Demais órgãos sem alterações
		Diarreia com sangue vivo. Morreu ao meio dia	Reto: sangue parcialmente digerido. Placas de Peyer muito evidentes, com aspecto irregular e pontos mais elevados e avermelhados		

^a Reg. = Registro SAP, ^b NO = não observado, ^c SA = sem alterações.

1% (2 horas) a 4°C, desidratados em álcool (50, 70, 80, 90, 95 e 100% por 10 minutos) a 4°C e acetona (temperatura ambiente), infiltrados com resina (1:1 e 1:2 por 90 minutos em temperatura ambiente) e polimerizados com resina pura (3 passagens de 12 horas nas temperaturas de 35, 45 e 60°C). Exame realizado em microscópio Zeiss Varion 10.

Bacteriologia. Os fragmentos de órgãos (pulmão, fígado e baço) e conteúdos estomacal e intestinal de 5 suínos foram inoculados e incubados por 96 horas em meio de Neil. As amostras foram semeadas em placas de Petri com conteúdo caldo coração/cérebro+ágar+sangue+antibióticos (bacitracina 15 unidades/ml, novobiocina 5 unidades/ml e sulfato de polimixina 1 unidade/ml), incubadas à 36°C, por 96 horas, sob condição atmosférica de microaerofilia, gerada após mistura gasosa composta de 10,0% CO₂, 5,0% de O₂ e 85,0% de nitrogênio (balanço). Usaram-se diversos meios de cultivo líquido (caldo brucella, caldo tripticase), semi-sólidos (tiol, tioglicolato - 0,3 ágar) e sólidos (tiol, tripticase - 0,5 ágar), em tubos e placas na tentativa de isolamento final do agente.

RESULTADOS

Histórico e epidemiologia. O primeiro surto foi observado em março de 1987, no município de Petrópolis, em uma granja com um plantel de 240 marrãs, mantidas em um sistema de manejo considerado de excelência, com boas instalações e práticas de higiene. As marrãs eram divididas em quatro lotes de 60 animais, e apenas uma delas (que havia sido levada para cobertura pelo cachaço) foi acometida pela doença. Nesse lote, a enfermidade teve início em uma baía e após disseminou-se para outras. Os animais, oito fêmeas, com 8 meses de idade, no segundo mês de gestação, apresentaram diarreia fétida enegrecida ou com sangue, vômito, hipotermia (36-37°C) e morreram poucas horas depois (dois animais morreram 6 horas após o início da diarreia). Os animais foram tratados com vitamina K. As fêmeas, linhagem Camborough 15 (Duroc Pic com Landrace Pic x Large White Pic, Agroceres) que formavam o lote, no qual a doença ocorreu, vieram de uma granja multiplicadora em Paulo de Frontin, RJ, dois meses antes do surto ocorrer. A ração era feita na própria granja. Um animal doente abortou. Na propriedade vizinha, uma porca morreu com os mesmos sintomas. O veterinário ainda relatou que já vira outros casos semelhantes em Ponte Nova, MG, há um ano atrás, em porcas de mesma linhagem. Em Ponte Nova, os problemas teriam surgido após a retirada da furazolidona da ração (100g/tonelada). O segundo surto ocorreu em 15 de maio de 1987, no município de Seropédica, em leitões com aproximadamente dois meses de idade. Os sete animais, ao meio dia, estavam bem. A noite um porco apresentou diarreia com sangue e amanheceu morto (SAP 24221). Os animais eram alimentados com "lavagem" (restos de comida) e ração. O desmame era realizado aos 2 meses de idade. O terceiro surto ocorreu em 26 de maio de 1988, em Campo Grande, município do Rio de Janeiro. Morreram inicialmente oito suínos, de 3 meses de idade, de um total de 200. Em 13 de julho, a doença já havia matado 20 animais. A doença

afetou, sobretudo, suínos entre 60 e 90 dias. A granja contava com 70 matrizes e tinha iniciado suas atividades há dois anos e meio; as instalações eram modernas e a ração era de fabricação própria. Os suínos eram provenientes de uma granja de Petrópolis, RJ. Seis meses antes do surto ocorrer, houve alteração no manejo dos suínos em fase de crescimento (troca do antibiótico sulfametazina por outro). Segundo o proprietário, o problema havia começado há aproximadamente um ano e meio. Os animais apresentavam-se inquietos, gritavam muito e morriam em poucas horas; os animais mortos, quando "abertos", apresentavam sangue dentro dos intestinos. Um animal (SAP 24266) apresentou diarreia com sangue vivo e morreu em aproximadamente 12 horas. Os suínos (machos e fêmeas) enviados para necropsia tinham entre 100 dias e 5 meses de idade.

Aspectos clínicos. Exceto na primeira granja avaliada (propriedade em que parte dos animais morreu em 6 horas, em boas condições corporais), as alterações mais freqüentes nos suínos ao exame clínico, foram queda do escore corporal e diarreia, na maior parte dos casos, caracterizada por fezes mais escurecidas, fétidas ou com sangue vivo. Outras alterações freqüentes foram mucosas hipocoradas a marmóreas, apatia e, por vezes, vômito. Observaram-se também hipotermia (36-37°C) e, em uma porca que se recuperou, leve hipertermia (39°C).

As alterações macroscópicas (Quadro 2), relativamente constantes, concentravam-se marcadamente no íleo. O órgão estava mais firme, pelo espessamento da parede, alteração bastante perceptível ao manuseio e à secção (Fig. 1). Externamente, a parede apresentava aspecto reticulado de mosaico, mais pronunciado nas porções mais caudais, quando visualizada através da serosa que, por sua vez, estava espessada e brilhante, mas transparente. A mucosa era irregular, espessada com áreas hiperêmicas; em alguns animais tinha aspecto de veludo



Fig. 1. Íleo mais firme com parede espessada (cabeça de seta); segmento aberto com mucosa de aspecto reticulado (seta branca) e placa de Peyer proeminente e rugosa (seta).

Quadro 3. Achados histopatológicos do íleo na infecção por *Lawsonia intracellularis* em suínos no Estado do Rio de Janeiro

Reg. ^a	Vilosidades	Inflamação	Criptas	Enterócitos	Células caliciformes	Muscular	Placas de Peyer	Outros
24187	Colabamento ++ ^b quase ausentes	Infiltrado LP ++ eosinófilos ++	Hiperplasia ++, aumento da taxa mitótica + eosinófilos na luz ++	Indiferenciação + hipercromasia ++	Ausentes	Edema + Inflamação mista +	SA ^d	Serosa c/ fibrina e eosinófilos (+)
24189	Colabamento ++ quase ausentes	Infiltrado LP ++ eosinófilos ++	Hiperplasia ++, aumento da taxa mitótica + eosinófilos na luz ++ criptas na submucosa	Indiferenciação + hipercromasia (+)	Raras	Edema + Inflamação mista ++	SA	SA
24202	Colabamento ++ necrose, ulceração e redução de tamanho das vilosidades ++	Infiltrado LP ++ leucócitos globulídeos ++ eosinófilos +	Hiperplasia ++, dilatação e ramificação ++ aumento da taxa mitótica +	Indiferenciação + (+); hipercromasia ++	Raras	Hipertrofia ++	Aumento ++ (+) aprofundamento de criptas ++	SA
24221	Colabamento ++ (+), necrose e ulceração ++ (+) redução do tamanho das vilosidades +	Infiltrado LP ++ leucócitos globulídeos (+) neutrófilos ++	Hiperplasia ++, dilatação e ramificação + aumento da taxa mitótica +	Indiferenciação + (+), hipercromasia ++	Raras	Hipertrofia ++; inflamação mista ++	Aumento ++ apro- fundamento ++	Linfáticos dilatados, infiltrado LP ^e + e misto + na serosa
24227	NC ^c	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
24261	Colabamento +; necrose e ulceração, bem como redução de tamanho +	Leucócitos glo- bulídeos ++; eosinófilos (+)	Hiperplasia +, dilatação e ramificação (+); aumento da taxa mitóticas (+)	Indiferenciação (+); hipercromasia (+)	Raras	Hipertrofia +	Aumento (+), apro- fundamento de criptas ++	Descontinuidade da muscular da mucosa
24266	Colabamento ++; necrose e ulceração ++ (+); diminuição ++	Infiltrado LP ++; leucócitos glo- bulídeos ++; eosinófilos +	Hiperplasia epitelial ++; dilatação e ramificação +;	Indiferenciação e hipercromasia ++	Reduzidas + (+)	Hipertrofia ++	Aumento ++, apro- fundamento ++ (+), ne- crose e hemorra- gia ++ (+), inf. gran. ^f	Necrose e hemor- agia ++, conges- tão ++, edema + em mucosa e sub- mucosa

^a Reg. = Registro S^aP, ^b (+) leve a moderado, ++ moderado, +++ intenso, ^c NC = não coletados, ^d SA = sem alterações, ^e LP = linfoplasmoscitário, ^f Inf. gran. = Infiltrado granulomatoso.

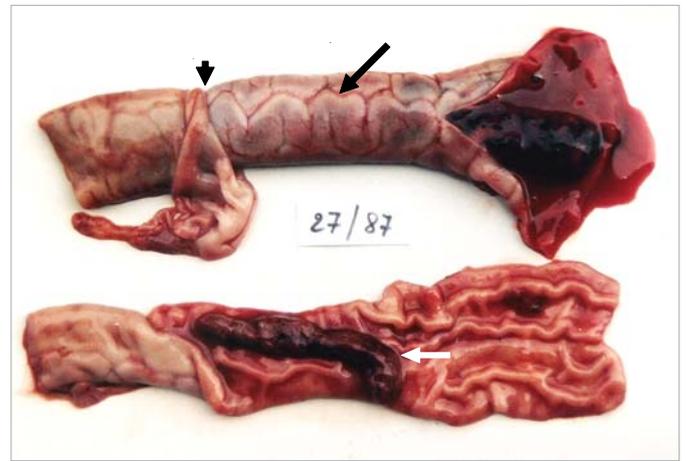


Fig. 2. Íleo com aspecto de mosaico (seta preta), visualizado através da serosa (espesada e brilhante, mas transparente; cabeça de seta). Mucosa levemente espessada, hiperêmica; coágulo sanguíneo cilíndrico (seta branca).

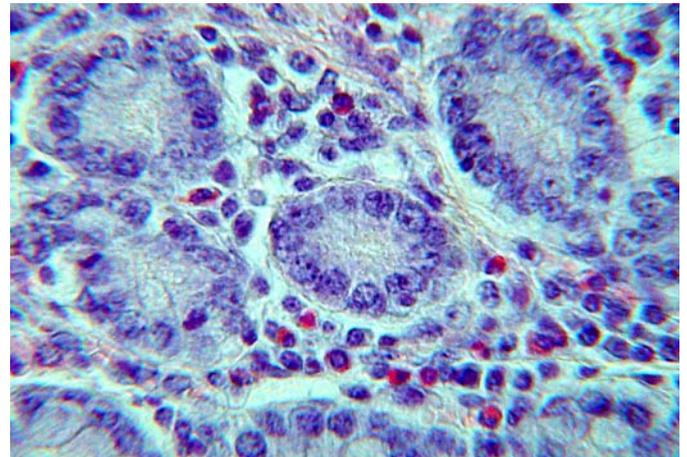


Fig. 3. Leve infiltração inflamatória mononuclear, com presença de leucócitos globulídeos, entre criptas ilíacas proliferadas. HE, obj.40x.

avermelhado e em outros apresentava-se coberta por “pseudomembranas”; o conteúdo era hemorrágico, com formação de coágulos cilíndricos (Fig.2). Diversos animais apresentavam rugosidade evidente na região das placas de Peyer, que se mostravam mais elevadas (Fig.1) e, por vezes, avermelhadas. Parte dos animais apresentou cólon distendido por gás, com sangue escuro no lúmen e ceco e reto com conteúdo sanguinolento, por vezes com coágulos. Havia sangue enegrecido ao redor do ânus de alguns animais. Os linfonodos mesentéricos estavam aumentados de volume e, em alguns animais, de coloração avermelhada ou ferruginosa. Nos demais órgãos não havia alterações significativas, ou eram secundárias.

As alterações microscópicas (Quadros 3 e 4) caracterizavam-se, sobretudo, por variados graus de hiperplasia de células epiteliais das criptas, em geral com hipercromasia, indiferenciação e atividade mitótica não muito pronunciadas (Fig. 3). Algumas criptas encontra-

Quadro 4. Achados histopatológicos de outras vísceras na infecção por *Lawsonia intracelularis* em suínos no Estado do Rio de Janeiro

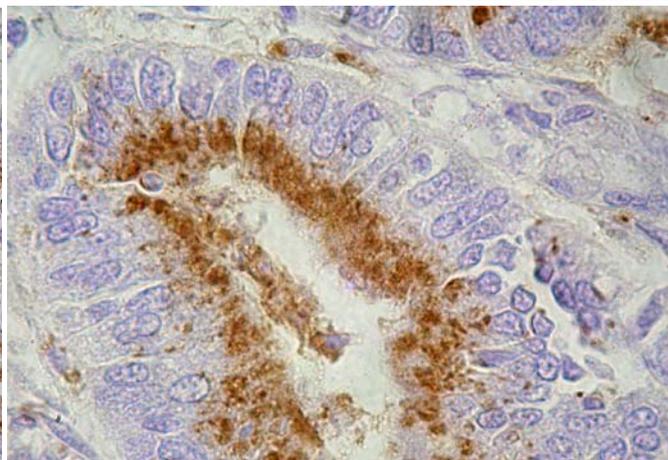
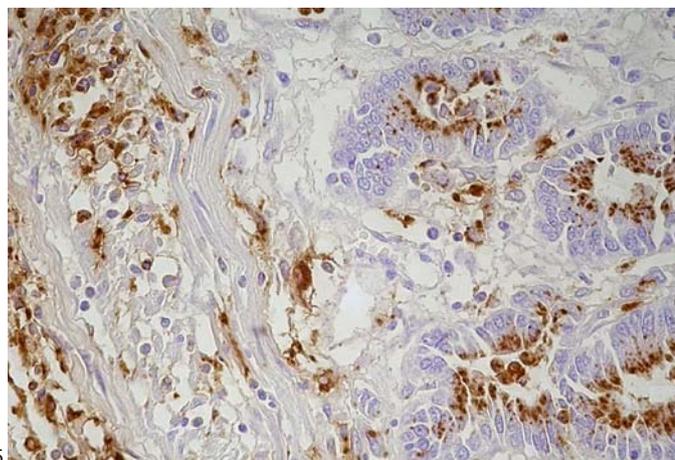
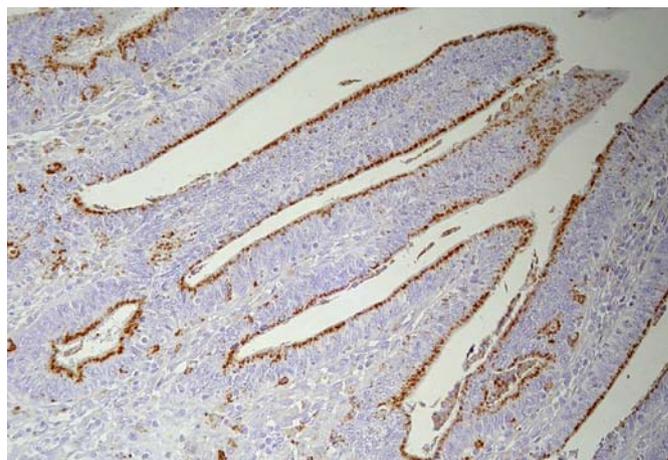
Reg. ^a	Linfonodos mesentéricos	Estômago	Jejuno	Intestino grosso	Baço	SNC	Fígado
24187	Hiperplasia linforreticular ++, edema ++, congestão ++, exsudato fibrino-purulento em seios subcapsulares +(+) e hemorragia	SA ^d	SA	SA	Congestão ++, hiperplasia reticular +, depleção linfóide parafolicular +	SA	Congestão centro-lobular +
24189	SA	SA	SA	SA	-	SA	SA
24202	SA	SA	Leucócitos globulídeos ++	Edema +, inflamação LP+	Hiperplasias reticular e interfolicular ++(+)	SA	Inflamação granulomatosa focal +, células gigantes+, congestão ++, inflamação mononuclear (+)
24227	NC ^c	NC	NC	NC	NC	NC	NC
24221	Edema +, hiperplasia linfóide folicular +, interfolicular + (+), hiperplasia reticular ++(+), eosinófilos +	Hiperplasia linfóide +	Infiltrado LP +, eosinófilos em luz de criptas, hiperplasia criptas +	SA	Edema +, indiferenciação (+), leucócitos globulídeos (+)	Sem alterações	SA
24261	Edema discreto, hiperplasia linfóide interfolicular +	Úlceras, inflamação neutrofílica e eosinofílica ++(+), tecido de granulação na muscular ++ e hiperplasia linfóide ++(+), peritonite aguda focal	SA	Inflamação LP ++(+), leucócitos globulídeos ++(+), necrose ++	SA	SA	SA
24266	Hiperplasia folicular e interfolicular +++, cariorrexia e cariólise ++(+), hemorragia (+), congestão ++(+)	SA	SA	SA	SA	SA	Inflamação periportal e congestão (+)

^a Reg. = Registro SAP, ^b (+) discreta, + leve, ++ leve a moderado, +++ moderado, ++++ moderado a intenso, +++++ intenso, ^c NC = não coletados, ^d SA = sem alterações, ^e LP = linfoplasmocitário.

Fig. 4. *Lawsonia intracelularis* em células epiteliais de vilosidades e criptas, detectada por imunohistoquímica (em marrom). Obj.20x.

Fig. 5. *Lawsonia intracelularis* em células epiteliais de criptas e em macrófagos, detectada por imunohistoquímica (em marrom). Obj.40x.

Fig. 6. *Lawsonia intracelularis* (em marrom), em células epiteliais de criptas, detectada por imunohistoquímica. Obj.100x.



vam-se dilatadas e preenchidas por exsudato eosinofílico. Por entre as criptas proliferadas, mas também na submucosa, entre as camadas musculares e até na serosa, havia infiltração rica em eosinófilos e leucócitos globulóides (Fig.3) com presença de linfócitos e plasmócitos. Também foram observados “colabamento” (fusão) no ápice das vilosidades, redução de células calciformes e leve hipertrofia multifocal das camadas musculares. As placas de Peyer, por vezes, encontravam-se hiperplásicas com presença de criptas no seu interior (“aprofundamento de criptas”). Havia áreas de descontinuidade da muscular da mucosa, através das quais as criptas penetravam a submucosa (“criptas na submucosa”). Em alguns animais predominavam lesões necróticas-ulcerativas, localmente extensivas, acompanhadas de grave hemorragia, mais proeminentes na metade superior da mucosa.

Bacteriologia. O exame microscópico (contraste de fase e campo escuro) feito do conteúdo do intestino delgado e grosso e de fragmentos de fígado, revelou presença de cocos móveis e imóveis e inúmeros bastonetes com características morfológicas e de motilidade típica de bactérias, à época designadas como do gênero *Campylobacter*. Nas placas semeadas verificou-se a presença de colônias pequenas com cerca de 1mm de diâmetro, convexas, brilhantes, de cor branco-acinzentada e não-hemolíticas. O exame bacterioscópico revelou, além de alguns cocos móveis e imóveis, bastonetes Gram-negativos em forma de vírgula, asa de gaivota e “s”, que caracterizavam o referido gênero, hoje *Lawsonia*. As tentativas de isolamento final do agente para sua caracterização bioquímica não tiveram êxito.

Imunohistoquímica. Os suínos (SAP 24187 e 24189) apresentaram, no íleo, marcação positiva com anticorpo policlonal anti-*Lawsonia intracellularis* no epitélio de criptas intestinais, vilosidades e em placas de Peyer (Fig.4, 5 e 6).

Microscopia eletrônica. A microscopia eletrônica, realizada em fragmentos de intestino de porcos, revelou que estas formas realmente são bactérias, morfológica e indistinguíveis das descritas ultramicroscopicamente como *Lawsonia intracellularis*.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de Enteropatia Proliferativa Hemorrágica (EPH) em suínos baseou-se nos aspectos clínico-patológicos característicos para a enfermidade e foi confirmado pela demonstração imunohistológica de *Lawsonia intracellularis* no intestino e pela detecção da bactéria em enterócitos através de microscopia eletrônica. Os exames bacteriológicos corroboraram com o diagnóstico.

Quanto à observação de possíveis fatores predisponentes, no primeiro surto em suínos, que ocorreu em Petrópolis, houve relato de condições claramente associadas à EPH. Havia histórico de enfermidade semelhante em uma propriedade vizinha - o que sugere a possibilidade de introdução do agente (Love et al. 1977, Mauch & Bilkei 2005) - bem como a interrupção do uso contínuo de

antibióticos na alimentação, o que está de acordo com as observações de Mauch & Bilkei (2005), para quem o uso contínuo de antibióticos cria populações susceptíveis às formas agudas da enfermidade. É possível que o surto observado na granja de Campo Grande, Rio de Janeiro, tenha origem em animais provenientes de Petrópolis. Outros fatores, como estresse, que poderia ser desencadeado por acasalamento ou por parto (Love et al. 1977) ou mudanças ambientais significativas (Lemarchand et al. 1997), bem como o tamanho do plantel (Stege et al. 2000), igualmente só puderam ser associados ao primeiro surto (em Petrópolis), uma vez que a doença acometeu marrãs prenhes, no segundo mês de gestação.

A enfermidade se desenvolveu de forma variada, tanto em relação aos sintomas, quanto em relação às faixas etárias acometidas nos diferentes surtos. No primeiro, a doença acometeu marrãs, como descrito por Mauch & Bilkei (2005), nos dois outros, em Campo Grande e Seropédica, a doença concentrou-se em animais entre as fases de desmame e terminação, como relatado por diversos outros autores (Ségales et al. 2001, Kyriakis et al. 2002, Alexopoulos et al. 2006). Em suínos, muitos autores têm creditado a diferença entre casos de Enterite Proliferativa (não-complicada, mais leve) e Enterite Proliferativa Hemorrágica (EPH), a diferenças na resposta imunológica (Smith & Lawson 2001). Evidências clínicas suportam essa idéia, pois EPH geralmente ocorre em animais maduros e casos não-complicados de EP ocorrem em jovens em crescimento (Rowland & Lawson 1992). Por outro lado, em alguns surtos de EPH, lactentes também podem ser afetados (Rowland & Rowntree 1972). A diferença clínica entre essas duas condições, porém é importante; em geral, EPH é altamente letal e Adenomatose Intestinal Suína (AIS) e EP são condições relativamente inócuas (Smith & Lawson 2001). Ainda no primeiro surto, a evolução foi superaguda; muitos animais foram a óbito entre 6 e 18 horas após o início dos sintomas. Guedes et al. (2002a) também descrevem quadro de EPH semelhante, com diarreia profusa e sangue, que determinava a morte em menos de 12 horas após o início dos sintomas. Em dois dos três surtos, foram verificados casos de hematoquesia intensos, a tal ponto de as paredes da baía ficarem tingidas de sangue.

Como observado por diversos autores (Love et al. 1977, Rowland & Hutchings 1978, McOrist et al. 1992, Guedes et al. 2002b, Boesen et al. 2004), as lesões macroscópicas associadas à EP foram mais expressivas no íleo; outros segmentos intestinais apresentavam lesões mais discretas (Morés et al. 1985, Jones et al. 1993, McOrist et al. 1993, Segalés et al. 2001). Geralmente, havia lesões necróticas-hemorrágicas, além das lesões proliferativas características. Em alguns animais, verificaram-se ainda lesões em outras vísceras, porém aparentemente secundárias ao processo intestinal. Tanto a variação no grau de manifestação da doença, quanto a ocorrência de quadros hemorrágicos e necróticos, são semelhantes às descrições de surtos naturais de EP no Brasil (Morés et al.

1985) e em outros países (Rowland & Lawson 1975, Jensen et al. 2000, Guedes et al. 2002a, Mauch & Bilkei 2005, McOrist 2005). Assim, de uma forma geral, as lesões clássicas relacionadas à EP, nos casos apresentados no presente estudo - hiperplasia das células crípticas, com hiper cromasia e em arranjo pseudoestratificado, assim como os diferentes tipos de infiltrados inflamatórios observados - são compatíveis com as descritas para a variedade de quadros microscópicos da doença descrita em suínos (Rowland & Lawson 1975, Morés et al. 1985, McOrist et al. 1992).

Não foi encontrada, na revisão de literatura, relação entre os leucócitos globulídeos, presentes de forma significativa nas lesões proliferativas de diversos suínos e EPS, de forma que o significado de sua presença permanece não determinado. Por outro lado, estas células têm sido associadas à intensificação de respostas imunomediadas (Finn & Schwartz 1972), de modo que talvez possam ser relacionadas à defesa local contra as bactérias infectantes, no caso, *Lawsonia intracellularis*.

REFERÊNCIAS

- Alderton M.R. 1993. Proliferative enteritis: endemic in Australian piggeries? Aust. Vet. J. 70:311.
- Alexopoulos C., Tassis P.D., Kyriakis C.S., Tzika E.D., Papatsiros V. & Kyriakis S.C. 2006. First experience on the effect of in-feed lincomycin for the control of proliferative enteropathy in growing pigs. J. Vet. Med. A 53:157-162.
- Barcellos D.E.S.N., Fallavena L.C.B. & Jacobi H. 1992. Enteropatia proliferativa hemorrágica como causa de diarreia em suínos, no Estado do Rio Grande do Sul. Arq. Fac. Vet. UFRGS 20:21-33.
- Biester H.E. & Schwarte L.E. 1931. Intestinal adenoma in swine. Am. J. Pathol. 7:175-185.
- Boesen H.T., Jensen T.K., Schmidt A.S., Jensen B.B., Jensen S.M. & Moller K. 2004. The Influence of diet on *Lawsonia intracellularis* colonization in pigs upon experimental challenge. Vet. Microbiol. 103:35-44.
- Cooper D.M., Swanson D.L. & Gebhart C.J. 1997. Diagnosis of proliferative enteritis in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from a hamster, horse, deer and ostrich using a *Lawsonia intracellularis*-specific multiplex PCR. Vet. Microbiol. 54:47-62.
- Dittmar M., Hoelkle K., Hoelkle K., Sydler T., Corboz L., Miserez R. & Wittenbrink M. 2003. Diagnosis of Porcine Proliferative Enteropathy: Detection of *Lawsonia intracellularis* by pathological examinations, Polymerase Chain Reaction and cell culture inoculation, J. Vet. Med. 50:332-338.
- Driemeier D., Faccini G.S., Oliveira R.T., Colodel E.M., Traverso S.D. & Cattani C. 2002. Silver staining combined with alcian blue and hematoxylin-eosin for the detection of *Lawsonia intracellularis* in swine proliferative enteropathy, Acta Histochem. 104(3):285-287.
- Duhamel G.E., Klein E.C., Elder R.O. & Gebhart C.J. 1998. Subclinical proliferative enteropathy in sentinel rabbits associated with *Lawsonia intracellularis*. J. Comp. Pathol. 35:300-303.
- Faccini G.S., Guedes R.M.C., Pescador C.A., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2005. Diagnóstico histoquímico e imunoistoquímico da enteropatia proliferativa (*Lawsonia intracellularis*) em suínos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 57(5):569-575.
- Finn J.P. & Schwartz L.W. 1972. A neoplasm of globule leukocytes in the intestine of a cat. J. Comp. Pathol. 82:323-328.
- Gebhart C.J., Ward G.E., Chang K. & Kurt Z.H. 1983. *Campylobacter hyointestinalis* (new species) isolated from swine lesion of proliferative ileitis. Am. J. Vet. Res. 44(3):361-367.
- Guedes R.M., Gebhart C.J., Armbruster G.A. & Roggow B.D. 2002a. Serological follow-up of a repopulated swine herd after an outbreak of proliferative hemorrhagic enteropathy, Can. J. Vet. Res. 66:258-263.
- Guedes R.M., Gebhart C.J., Wilkelman N., Mackie-Nuss R.A., Marsteller T.A. & Deen J. 2002b. Comparison of different methods for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. Can. J. Vet. Res. 66: 99-107.
- Jacobson M., Segerstad C.H., Gunnarsson A., Fellström C., de Verdier Klingenberg K., Wallgren P. & Jensen-Waern M. 2003. Diarrhoea in the growing pig: a comparison of clinical, morphological and microbial findings between animals from good and poor performance herds, Res. Vet. Sci. 74:163-169.
- Jensen T.K., Moller K., Lindecrona B. & Jorsal, S.E. 2000. Detection of *Lawsonia intracellularis* in the tonsils of pigs with proliferative enteropathy. Res. Vet. Sci. 68:23-32.
- Jones G.F., Ward G.E., Murtaugh M.P., Lin G. & Gebhart C.J. 1993. Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, *ileal symbiont intracellularis*, in feces by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 31(10):2611-2615.
- Koyama T., Hirai T. & Nagai S. 2006. *In vitro* cultivation and partial characterization of *Lawsonia intracellularis* from a Japanese field case of Porcine Proliferative Enteropathy, J. Vet. Med. Sci. 68(8):609-611.
- Kyriakis S.C., Alexopoulos C., Saoulidis K., Lekkas S., Milliotis C.C. & Sauveroché B. 2002. The effect of josamycine on the control of ileitis in weaned piglets under field conditions. J. Vet. Pharmacol. Therap. 25:279-284.
- Lawson G.H.K. & Rowland A.C. 1974. Intestinal adenomatosis in the pig: A bacteriological study. Res. Vet. Sci. 17:331-336.
- Lemarchand T.X., Tully T.N., Shane S.M. & Duncan D.E. 1997. *Intracellular Campylobacter*-like organism associated with rectal prolapse and proliferative enteroproctitis in emus (*Dromaius novaehollandiae*). Vet. Pathol. 34:152-156.
- Love R.N., Love D.N. & Edwards M.J. 1977. Proliferative Haemorrhagic enteropathy in pigs. Vet. Rec. 100(4):65-68.
- Mapother M.E., Joens L.A. & Glock R.D. 1987. Experimental reproduction of porcine proliferative enteritis. Vet. Rec. 121:533-536.
- Mauch C.P. & Bilkei G. 2005. Reproductive performance of gilts following an outbreak of acute proliferative enteropathy due to *Lawsonia intracellularis*. Vet. J. 170:128-131.
- McOrist S. 2005. Defining the full costs of endemic porcine proliferative enteropathy. Vet. J. 170:8-9.
- McOrist S., Boid R. & Lawson G.H.K. 1989. Antigenic analysis of *Campylobacter* species and an intracellular *Campylobacter*-like organism associated with Porcine Proliferative Enteropathies. Infect. Immun. 57(3):957-962.
- McOrist S., MacIntyre N., Stokes C.R. & Lawson G.H.K. 1992. Immunocytological responses in porcine proliferative enteropathies. Infect. Immun. 60:4184-4191.
- McOrist S., Jasni S., Mackie R., MacIntyre N., Neef N. & Lawson G. 1993. Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont intracellularis. Infect. Immun. 61(10):4286-4292.
- McOrist S., Gebhart C.J., Boid R. & Barns S.M. 1995. Characterization of *Lawsonia-intracellularis* gen-nov, sp-nov, the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy, Int. J. Syst. Bacteriol. 45(4):820-825.
- McOrist S., Roberts L., Jasni S., Rowland A.C., Lawson G.H.K., Gebhart C.J. & Bosworth B. 1996. Developed and resolving lesions in porcine proliferative enteropathy: possible pathogenic mechanisms. J. Comp. Pathol. 115:35-45.
- Morés N., Neves D.S., Nogueira R.H.G. & Guimarães E.B. 1985. Diagnósticos clínico e Anátomo-histológicos de casos espontâneos de

- Enteropatia Proliferante e Hemorrágica (EPH) em suínos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 37(1):29-37.
- Rowland A.C. & Hutchings D.A. 1978. Necrotic enteritis and regional ileitis in pigs at slaughter. Vet. Rec. 103(15):338-339.
- Rowland A.C. & Lawson G.H.K. 1975. Porcine intestinal adenomatosis: a possible relationship with necrotic enteritis, regional ileitis and proliferative haemorrhagic enteropathy. Vet. Rec. 97(10):178-180.
- Rowland A.C. & Lawson G.H.K. 1992. Porcine proliferative enteropathies, p.560-569. In: Leman A.D., Straw B.E., Mengeling W.L., D'Allaire S. & Taylor D.J. (ed.), Diseases of Swine. 7th ed. Iowa State University Press, Ames.
- Rowland A.C. & Rowntree P.G.M. 1972. Haemorrhagic Bowel Syndrome associated with intestinal adenomatosis in the pig. Vet. Rec. 91:235-241.
- Schauer D.B., McCathey S.N., Daft B.M., Jha S.S., Tatterson L.E., Taylor N.S. & Fox J.G. 1998. Proliferative Enterocolitis associated with dual infection with enteropathogenic *Escherichia coli* and *Lawsonia intracellularis* in rabbits. J. Clin. Microbiol. 36(6):1700-1703.
- Segalés J, Fernández-Salguero J.M., Fructuoso G., Quintana J., Rosell J., Pozo J., Arriba M.L, Rubio M. & Domingo J. 2001. Granulomatous enteritis and lymphadenitis in Iberian pigs naturally infected with *Lawsonia intracellularis*. Vet. Pathol. 38(3):343-346.
- Smith D.G.E. & Lawson GH. 2001. *Lawsonia intracellularis*: getting inside the pathogenesis of proliferative enteropathy. Vet. Microbiol. 82(4):331-345.
- Stege H., Jensen T.K., Möller K., Baekbo P. & Jorsal S.E. 2000. Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. Prev. Vet. Med 46(4):279-292.
- Umemura T., Tsuchitani M., Totsuka M., Naramie I. & Yamachiro S. 1982. Histiocytic enteritis of rabbits. Vet. Pathol. 19:326-28.
- Wuersch K., Huessy D. & Koch K. 2006. *Lawsonia intracellularis* Proliferative Enteropathy in a filly. J. Vet. Med. 53:17-21.