

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**“AVALIAÇÃO A CAMPO DA VACINA ENTERISOL® ILEITIS ATRAVÉS DE
PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS E SANITÁRIOS EM SUÍNOS NAS FASES DE
CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO”**

RICARDO LUÍS PIEROZAN

PORTO ALEGRE
2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**“AVALIAÇÃO A CAMPO DA VACINA ENTERISOL® ILEITIS ATRAVÉS DE
PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS E SANITÁRIOS EM SUÍNOS NAS FASES DE
CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO”**

Autor: RICARDO LUÍS PIEROZAN

Dissertação apresentada como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre
em Ciências Veterinária na área de
Sanidade em Suínos.

Orientador: Prof. Dr. David Emilio Santos Neves de Barcellos

PORTO ALEGRE

2005

AGRADECIMENTOS

À minha esposa Sandra pelo incentivo, paciência e coragem de continuar educando a Júlia, a Laura e o Alfredo mesmo na ausência do pai.

As minhas “filhotas” Júlia e Laura que muitas vezes não entendiam ou não queriam entender, com toda razão, a saída do papai nos domingos à noite. E ao Alfredo, que conseguiu vencer as “batalhas” mesmo longe do papai.

A minha mãe Edite, pelo companheirismo.

Ao meu mestre professor, David E. S. N. Barcellos, pela orientação na busca de novos conhecimentos, pelo exemplo de profissionalismo, pela dignidade e simplicidade.

Aos amigos Francisco Carnino e Nelson Mores, pelos conselhos.

Aos profissionais Leocir Merlo, Antoninho Zanuzzo, Ricardo Soncini e Nelson Bauermann pelo envolvimento junto à diretoria da empresa responsável pelo meu afastamento de trabalho com vínculo empregatício.

Aos colegas de trabalho que ajudaram na condução do experimento: Mauro, Kaiber, Volnei, Edson, Savoldi, Peritti, Alan, Vezaro, Mores, Zezão, Iara, George, Lisandro, Alessi, André, João, Spricigo, Odirlei, Prando, Ivonei, Reolon, Gustavo, Nicolau, Renato e Adriano. Ao Zucchi e Álvaro, pelo processamento e pré-análise estatística.

Ao Alisson e a Djane, pelo acolhimento na “suíte” 71 e pela amizade.

Aos colegas do Setor de Suínos da Faculdade de Veterinária da UFRGS: Paulo, Vladimir, Rafael, Gustavo, Ana, Felipe e, em especial, ao Evandro, pelo convívio.

Aos professores Ivo Wentz e Fernando P. Bortolozzo pelos ensinamentos. E a todos os bolsistas e estagiários do Setor de Suínos da Fac. Vet, da UFRGS, sem exceção.

Aos professores Roberto M. C. Guedes e Mari L. Bernardi, pela eficiente orientação e auxílio na análise estatística.

Ao Laboratório Elanco pelo fornecimento da vacina. Em especial, ao Jandir Pilotto, Rodrigo Gatti, Fernando Bertazo e Flávio Hirosi.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela oportunidade de aprendizagem.

RESUMO

AVALIAÇÃO A CAMPO DA VACINA ENTERISOL[®] ILEITIS ATRAVÉS DE PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS E SANITÁRIOS EM SUÍNOS NAS FASES DE CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO.

Autor: Ricardo Luís Pierozan
Orientador: Prof. David Emilio Santos Neves de Barcellos
Co-orientadores: Prof^ª. Mari Lourdes Bernardi
Prof. Roberto Maurício Carvalho Guedes

Entre as causas de diarreia em suínos de crescimento e terminação, a infecção por *L. intracellularis* é uma das mais relevantes e é uma das principais justificativas para o uso excessivo de antimicrobianos na ração. O presente experimento visou a avaliar uma alternativa ao uso de medicamentos para o controle da infecção pela *L. intracellularis*, a vacinação. O teste foi realizado com uma vacina avirulenta já licenciada para uso em outros países (Enterisol[®] Ileitis) e que em avaliações realizadas em diversos países mostrou resultados, em sua maior parte, favoráveis. O experimento foi conduzido em uma empresa integradora, localizada no Estado de Santa Catarina entre os meses de Maio a Dezembro de 2004. Para tal foram usados 54.030 animais submetidos a quatro tratamentos, em delineamento fatorial 2 x 2, sendo avaliado o efeito de dois fatores: a administração ou não da vacina e o fornecimento de ração com antimicrobianos de forma contínua ou descontínua, durante os períodos de crescimento e terminação. O número de lotes que fizeram parte do experimento foi 128 (32 em cada tratamento) e o lote foi considerado como unidade experimental. A vacina foi administrada na água de bebida entre as semanas 3 e 4 de alojamento. Houve efeito da vacinação na conversão alimentar ($P < 0,05$), a qual foi melhor nos animais vacinados. Além disso, ocorreu uma tendência ($P = 0,079$) dos animais vacinados em apresentar menor coeficiente de variação no peso da carcaça quente. Os animais que receberam medicação com antimicrobianos de forma descontínua tenderam a ganhar menos peso ($P = 0,078$) do que os animais que receberam ração com antimicrobianos de forma contínua. O coeficiente de variação de peso da carcaça quente foi menor ($P < 0,05$) nos animais que receberam ração de forma descontínua com antimicrobianos em comparação aos que receberam ração com antimicrobianos de forma contínua. Ocorreram poucos diagnósticos da presença do agente em lotes com e sem diarreia durante o experimento. É possível que o período experimental tenha havido baixa circulação do agente e que os efeitos favoráveis na conversão alimentar reflitam um controle da forma sub-clínica da infecção.

Palavras-chave: *L. intracellularis*, vacina, enteropatia proliferativa suína, EPS.

ABSTRACT

Field evaluation of the vaccine Enterisol[®] Ileitis assessing production and health characteristics in growing and finishing pigs

Author: Ricardo Luís Pierozan

Supervisor: Prof. David Emilio Santos Neves de Barcellos

Co-supervisors: Prof. Mari Lourdes Bernardi

Prof. Roberto Maurício Carvalho Guedes

*Among the causes of diarrhea in growing and finishing pigs, *L. cellularis* infection is one of the most significant etiologies and is a common justification for the excessive use of antibiotics as feed additives. The present work assessed an avirulent live vaccine licensed for use in several countries (Enterisol[®] Ileitis) that in former evaluations presented mostly positive results. The experiment was carried out in an Integration System located in the State of Santa Catarina, Brazil, from May to December - 2004. Fifty four thousand and thirty pigs were allocated into four treatments, using a 2X2 factorial. The effect of two factors were assessed: the use or not of vaccine and the use of continuous or pulse feed medication, during growing and finishing ages. One hundred and thirty eight groups of pigs were allocated in the four treatments (32 in each) and the lot was considered as the experimental unit. The vaccine was administered in the water, 3 to 4 weeks after housing in the growing facilities. There was effect of the vaccine in feed conversion rate ($P < 0.05$), better in the vaccinated groups. Moreover, there was a tendency ($P = 0.079$) of vaccinated animals to present lower variability of carcass weight at slaughter. The groups receiving pulse feed medication tended to get a better weight gain ($P = 0.078$) than pigs receiving continuous feed medication. The carcass weight variability at slaughter was significantly lower ($p < 0.05$) in groups receiving continuous feed medication when compared with pigs receiving antibiotics in pulses. There were few diagnosis of the presence of the agent in groups with and without diarrhea during the experiment. It is possible that the positive effect in feed conversion rate reflected the control of sub-clinical infections.*

*Key-words: *L. intracellularis*, vaccine, swine proliferative enteropathy, ileitis.*

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Estimativa da prevalência da enteropatia proliferativa em granjas e suínos em diferentes países.....	16
TABELA 2 - Títulos de IgA de lavado intestinal, oriundos de suínos experimentalmente infectados (2 suínos em cada data) em diferentes períodos após a inoculação.....	27
TABELA 3 - Resumo dos resultados de estudos sobre a vacinação contra a infecção por <i>L. intracellularis</i>	29
TABELA 4 - Detalhamento dos tratamentos avaliados.....	33
TABELA 5 - Distribuição dos animais de acordo com os tratamentos avaliados.....	34
TABELA 6 - Desempenho zootécnico de acordo com a vacinação ou não para a EPS (enteropatia proliferativa suína).....	39
TABELA 7 - Desempenho zootécnico de acordo com o uso contínuo ou descontínuo de antimicrobianos na ração de crescimento e terminação de suínos.....	39
TABELA 8 - Percentual de lotes medicados em função da incidência de diarreia acima de 5% dos animais.....	40
TABELA 9 - Resultados de diagnósticos laboratoriais devido à diarreia clínica.....	43

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Componentes imunológicos do trato gastrointestinal.....	23
FIGURA 2 - Perfil sorológico para a infecção por <i>L. intracellularis</i> nas fases de crescimento e terminação dos suínos.....	38
FIGURA 3 - Índice de diarreia entre os diferentes tratamentos.....	41
FIGURA 4 - Percentual de diarreia entre tratamentos conforme a consistência das fezes.....	41
FIGURA 5 - Índice de diarreia entre tratamentos conforme a semana de alojamento.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

AASV	“American Association of Swine Veterinarians”
CA	Conversão alimentar
CD	Citocina
cm	Centímetros
CV	Coeficiente de variação
DNA	Ácido desoxi-ribonucléico
EPH	Enteropatia proliferativa hemorrágica
EPS	Enteropatia Proliferativa Suína
GPG	Ganho de peso diário
IFN	Interferon
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL	Interleucina
IPMA	Imunoperoxidase em monocamada
IPVS	Congresso da “International Pig Veterinary Society”
Kg	Quilogramas
°C	Graus Celsius
PCR	Reação em cadeia da polimerase
SAS	“Software” de análise estatística
TGI	Trato gastrointestinal
Th	Célula T auxiliar
UPL	Unidade produtora de leitões
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Etiologia.....	14
2.2 Epidemiologia.....	15
2.3 Patogenia.....	18
2.4 Quadro clínico e patológico.....	19
2.4.1 Forma crônica.....	19
2.4.2 Forma aguda.....	20
2.4.3 Lesões.....	20
2.5 Diagnóstico.....	21
2.6 Imunologia do trato digestório dos suínos.....	22
2.7 Desenvolvimento da imunidade para <i>L. intracellularis</i>	25
2.8 Vacinas e vacinações para Enteropatia Proliferativa Suína.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Local.....	31
3.2 Período.....	31
3.3 Animais.....	31
3.4 Instalações.....	31
3.5 Manejo em geral.....	32
3.6 Tratamentos.....	32
3.7 Determinação do período de infecção pela <i>L. intracellularis</i>	34
3.8 Administração da vacina.....	35
3.9 Observações clínicas, critérios de medicação dos lotes e confirmação laboratorial.....	35
3.10 Análise estatística.....	36
4 RESULTADOS	37
4.1 Avaliação do momento da vacinação.....	37
4.2 Avaliação de dados zootécnicos e sanitários.....	37
4.3 Avaliação da consistência das fezes.....	40
4.4 Resultados de diagnósticos laboratoriais.....	42
5 DISCUSSÃO	44

6 CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICES	59
Apêndice A – Figura da consistência das fezes.....	59
Apêndice B – Planilha de registro de dados zootécnicos e sanitários.....	60

1 INTRODUÇÃO

As diarreias são manifestações de um quadro patológico que causam significativos prejuízos à suinocultura, não apenas pela morte de animais, mas, especialmente, por intervir negativamente em seu crescimento e conversão alimentar, e aumentar custos de produção decorrentes de manejo diferenciados e nas medicações (BARCELLOS, BOROWSKI, 2001).

A Enteropatia Proliferativa Suína (EPS), também conhecida como ileíte, é uma doença comum no mundo todo, que afeta suínos mantidos em diferentes condições de manejo. Pode ser observada em rebanhos de diversos estados sanitários, nas formas aguda ou crônica. Em suínos entre 6 e 16 semanas de idade, a forma crônica da doença evidencia-se principalmente através da redução da taxa de crescimento. Leitões mais velhos, acometidos pela forma aguda, apresentam diarreia sanguinolenta, seguida de morte súbita (McORIST, GEBHART, 1999). O agente etiológico da EPS é uma bactéria intracelular obrigatória denominada *Lawsonia (L.) intracellularis* (McORIST *et al.*, 1995a). A EPS é caracterizada pelo espessamento da mucosa intestinal causada pela proliferação de enterócitos das criptas infectados pela *L. intracellularis* (GUEDES, 2003).

Na década de 70 Rowland, Lawson e Maxwell (1973) conseguiram associar as lesões dos enterócitos hiperplásicos com a presença de um microorganismo intracelular que se encontrava na porção citoplasmática apical destes enterócitos. Somente em 1993 foi possível isolar e manter *in vitro* a bactéria causadora dessa lesão (LAWSON *et al.*, 1993). No mesmo ano, McOrist *et al.* (1993), usando cultura pura, conseguiram reproduzir a doença e reisolar a bactéria. O nome definitivo do agente ficou sendo *Lawsonia intracellularis*, classificado dentro da família Desulfobriaceae (McORIST *et al.*, 1995a).

A infecção dos suínos ocorre por via oro-fecal. Dessa forma, a eliminação da *L. intracellularis* nas fezes é um dos aspectos mais relevantes à patogenia da EPS. A bactéria é eliminada em grande quantidade e por um longo período nas fezes de animais infectados, resiste por certo tempo no meio ambiente e não necessita de uma dose infectante muito alta (GUEDES, 2002).

A EPS está presente em praticamente todos os países em que a suinocultura representa uma atividade economicamente significativa. Nos países da América do Norte, o percentual médio de prevalência de EPS em propriedades produtoras de suínos é de 96%, no continente Europeu entre 57 e 100%, em países da Ásia acima de 86% e

em alguns países da América do Sul acima de 68%. No Brasil, a infecção está presente em aproximadamente 96% das granjas e em cerca de 22% dos suínos (McORIST, BARCELLOS, WILSON, 2003).

Os principais prejuízos da EPS, na sua forma crônica, se relacionam com atraso de crescimento, piora da conversão alimentar, gastos com medicação e maior variabilidade de peso da carcaça dos animais no abate. Na sua forma aguda, pela hemorragia intestinal, além dos problemas anteriormente citados pode ocorrer a morte dos animais afetados (BARCELLOS, BOROWSKI, 2001). Lawson e McOrist (1993) estimaram um custo anual na Austrália de US\$ 20 por matriz. Em outro trabalho, Winkelman e Dee (1996) relatam que nos Estados Unidos a perda poderia chegar a 20 milhões de dólares anuais. As perdas financeiras também foram estimadas por McOrist e Gebhart (1999) para os Estados Unidos da América. Considerando o tempo a mais de alojamento necessário para o abate, ração extra em decorrência da piora da conversão alimentar e mortalidades de animais, as perdas variaram entre 5 e 10 US\$ por animal terminado, especialmente nos casos de alta prevalência.

Segundo Guedes (2003), as lesões macroscópicas mais comuns da EPS aguda se caracterizam pelo espessamento da parede intestinal do íleo, edema e congestão do mesentério, rugosidade da mucosa com pregas espessas e conteúdo fibrino-hemorrágico com coágulos no lúmen intestinal. Já para a forma crônica da EPS, os animais severamente afetados apresentam edema no mesentério próximo à inserção com a alça intestinal afetada. A parede intestinal encontra-se espessada e a mucosa com pregas bem evidentes.

A observação clínica, considerando a consistência das fezes, atitude e condição corporal dos animais afetados e coleta de fezes para realização de testes de reação em cadeia da polimerase (PCR), são passos importantes para o processo de diagnóstico em animais em crescimento e terminação (GUEDES, 2002). O mesmo autor cita que outras técnicas são igualmente utilizadas e importantes para a confirmação do diagnóstico, como por exemplo, necropsia, exames histopatológicos, imuno-histoquímica e sorologia. Em função da impossibilidade de propagar a *L. intracellularis* em meios artificiais de cultivo bacteriológico, o isolamento não é considerado uma técnica de diagnóstico válida.

Historicamente, a prevenção, controle e tratamento da EPS têm se baseado no uso contínuo de antimicrobianos nas rações e na correção de fatores de risco associados. Vários princípios ativos têm sido utilizados para controlar a EPS em nosso meio

criatório. Entre outros, podem ser citados a tilosina, tiamulina, clortetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina e lincomicina. O uso persistente de antimicrobianos via ração tem sido criticado pelo risco do surgimento de resíduos ou da indução de resistência antimicrobiana nas bactérias intestinais dos animais que são submetidos a tal tipo de medicação massal.

Recentemente, o desenvolvimento de uma vacina viva avirulenta (Enterisol[®] Ileitis – Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. – Estados Unidos da América) tem oferecido uma alternativa à medicação contínua via ração (KOLB, MICHELS, 2002). Segundo Knittel *et al* (2000), a vacina usada sozinha ou em combinação com medicação estratégica pode reduzir ou mesmo eliminar o uso de medicação injetável ou na ração, enquanto estiver promovendo um grau de imunidade. A vacina é fornecida aos animais via água de beber, em um período mínimo de cinco a seis semanas antes de haver conversão sorológica para a *L. intracellularis* (WALTER *et al.*, 2004). Os mesmos autores citam que não deverá haver antimicrobianos na ração fornecida aos animais, por um período de três dias antes e três dias após a administração da vacina, bem como a ausência de cloro na água de beber pelo mesmo período. Estudos de campo, usando a vacina Enterisol[®] Ileitis, demonstraram uma melhoria na conversão alimentar, no ganho de peso diário e uma diminuição da mortalidade (SICK, HAYES, KOLB, 2002a).

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da vacina Enterisol[®] Ileitis, para o controle da Enteropatia Proliferativa Suína, através da medida de parâmetros zootécnicos como conversão alimentar e ganho de peso diário. Além desses, foram consideradas variáveis sanitárias como mortalidade, terapia de lote, consistência das fezes, ocorrência de diarreia e coeficiente de variabilidade do peso de carcaças.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Etiologia

O agente primário da Enteropatia Proliferativa Suína é uma bactéria intracelular obrigatória denominada de *Lawsonia intracellularis*, bacilo gram-negativo em forma de vírgula que cresce especificamente em células epiteliais intestinais, possui flagelo unipolar único e é microaerofílica (McORIST, GEBHART, 1999).

Utilizando técnicas de imunofluorescência e microscopia eletrônica Rowland, Lawson e Maxwell (1973) verificaram a presença de um microorganismo irregularmente curvo no interior de células de criptas intestinas proliferadas. No ano de 1974, do citoplasma de células dessas áreas, foi isolada uma bactéria denominada *Campylobacter sputorum subsp. mucosalis* (LAWSON, ROWLAND, 1974).

No período compreendido entre esses estudos pioneiros da doença e a primeira metade da década de 80, acreditava-se que uma ou mais espécies do gênero *Campylobacter* fosse ou fossem os agentes responsáveis pela doença nos suínos. Na literatura havia uma certa confusão a respeito da identidade dos microorganismos envolvidos na enfermidade. Com o uso de técnicas imuno-histoquímicas, havia a sugestão de que os agentes intracelulares observados em todas as formas da doença fossem similares, se não idênticos, aos *Campylobacter* sp. (McORIST *et al.*, 1995b). Através de métodos imunológicos, McOrist *et al.* (1987) demonstraram que os microorganismos encontrados no interior das células infectadas eram diferentes dos *Campylobacter* sp. cultivados até então, a partir de materiais coletados de suínos afetados. Além disso, Lawson (1991) foi incapaz de reproduzir a EPS usando como inóculo cepas de *Campylobacter* sp. No mesmo estudo, o autor não conseguiu isolar as bactérias encontradas no interior das células dos tecidos infectados.

O isolamento e manutenção *in vitro* da bactéria causadora da EPS foram realizados somente em 1993, utilizando um cultivo celular de linhagem de enterócito de rato (LAWSON *et al.*, 1993). Leitões inoculados por via oral com cultivos celulares infectados desenvolveram leve espessamento das placas de Peyer no íleo 22 dias após a inoculação. No mesmo ano, usando culturas puras, McOrist *et al.* (1993) observaram microscopicamente hiperplasia marcada das células epiteliais das criptas do íleo, com presença de numerosas bactérias curvas dentro do citoplasma apical das células, sugerindo que a bactéria que infectava o cultivo celular era a causadora da EPS.

A identidade do microorganismo intracelular foi determinada usando uma técnica conhecida como filogenia da sequência do RNA ribossômico 16S (McORIST *et al.* 1995a). Após a purificação do DNA, foi utilizada a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) para amplificar o DNA codificador do RNA ribossômico 16S. Os mesmos autores compararam o produto obtido na PCR com seqüências de espécies de *Campylobacter* e de outros microorganismos, demonstrando não haver similaridade filogenética com *Campylobacter* sp. Havia 91% de similaridade com um microorganismo não relacionado aos anteriormente isolados de suínos, o *Desulfovibrio desulfuricans*. A partir daí, a nova bactéria foi classificada na família Desulfovibrionaceae. O nome definitivo ficou sendo *Lawsonia intracellularis*, em homenagem a um pesquisador escocês envolvido nas pesquisas pioneiras sobre a EPS, o Dr. Gordon Lawson ((McORIST *et al.* 1995a).

Por se tratar de uma bactéria intracelular obrigatória, necessitava de cultivos celulares contendo células em multiplicação e requeria níveis de gases similares aos encontrados no intestino. O microorganismo é de difícil isolamento, existindo no mundo somente cerca de 13 isolados de *L. intracellularis* e quatro laboratórios em condições de cultivá-lo (GUEDES, 2003).

2.2 Epidemiologia

A intensificação da produção de suínos tem aumentado a prevalência e severidade da infecção pela *L. intracellularis*. A doença é endêmica, mas nem sempre se apresenta clinicamente visível. Raças brancas híbridas manifestam mais a Enteropatia Proliferativa do que cruzamentos com a raça Duroc. Os suínos se infectam precocemente ou tardiamente, dependendo do tipo de criação. A infecção tardia é mais comum em leitões criados em sistemas de produção, que no desmame, transferem os animais para outras unidades, onde serão terminados. No caso das fêmeas, a infecção pode ser subclínica tornando-as portadoras e, portanto, potenciais disseminadoras da *L. intracellularis* (McORIST, BARCELLOS, WILSON, 2003).

Os índices estimados de prevalência sorológica demonstram que a EPS é comum em vários países produtores de suínos, conforme descrito na Tabela 1.

No Brasil, os primeiros registros da presença da Enteropatia Proliferativa Suína foram na década de 80 (SONCINI, 1983; MORES *et al.*, 1985; BORDIN, 1985; PEIXOTO *et al.*, 1988; SANTOS *et al.*, 1988; NASCIMENTO, 1989). Mais

recentemente, Moreno *et al.* (1999) analisaram fezes de suínos em São Paulo utilizando a técnica de PCR no período de Dezembro de 1996 a Fevereiro de 1999. Foi encontrada uma frequência de detecção para a *L. intracellularis* de 15% entre as amostras analisadas. Ristow, Silva e Perez (1999) realizaram um levantamento sorológico para a EPS em suínos no estado de Minas Gerais e verificaram uma alta positividade para a maioria das granjas (96,33%) e uma média de 22,10% dos animais dessas granjas era positiva.

Tabela 1 - Estimativa da prevalência da enteropatia proliferativa em granjas e suínos em diferentes países.

País	Granjas analisadas (n°)	Granjas positivas (%)	Suínos positivos (%)
USA	405	96	60
Canadá	78	95	60
México	134	97	44
Bélgica	68	81	38
República Tcheca	45	96	66
Dinamarca	79	94	30
França	356	77	35
Alemanha	79	73	27
Grã Bretanha	156	95	62
Hungria	47	89	36
Itália	67	67	31
Polônia	54	65	31
Portugal	33	57	31
Eslováquia	29	75	60
Espanha	96	73	38
Suécia	36	100	40
Holanda	536	84	33
Japão	75	94	34
Coréia do Sul	35	96	54
Taiwan	25	100	71
Tailândia	24	100	38
Filipinas	45	86	42
Argentina	22	68	20
Brasil	109	96	22
Venezuela	61	91	31

Fonte: McOrist, Barcellos e Wilson (2003)

Bane *et al.* (2001), através de um estudo para a identificação de possíveis fatores de risco para a ocorrência de EPS em suínos, avaliando índices zootécnicos, demonstraram que o transporte dos leitões para novas instalações, mudança de antibióticos na ração e mistura de animais aumentaram o risco de novos casos. Outros fatores também estavam positivamente correlacionados com a ocorrência de surtos como diferenças ou variações bruscas de temperaturas no mesmo dia e períodos muito quentes e úmidos. Acredita-se que esses fatores possam elevar o tempo de sobrevivência da *L. intracellularis* fora do hospedeiro (McORIST, GEBHART, 1999). Estes autores também citam que algumas cepas têm permanecido viáveis fora das células do hospedeiro a 5 °C por uma a duas semanas. Já, Collins *et al.* (2000a), num experimento de infecção experimental com *L. intracellularis*, demonstraram que a bactéria podia sobreviver a uma temperatura de 25 °C por duas semanas em temperatura ambiente. Neste mesmo estudo, ao testar a sensibilidade da *L. intracellularis* frente a seis princípios ativos de desinfetantes, verificaram que os produtos à base de amônia quaternária e iodo-povidine apresentavam melhor atividade bactericida.

O desenvolvimento de métodos como o PCR e testes imunológicos têm permitido mensurar a eliminação da *L. intracellularis* nas fezes dos suínos, sendo a via feco-oral a principal via de infecção entre os suínos (McORIST, GEBHART, 1999). Segundo Guedes *et al.* (2002a) pode ocorrer a eliminação da *L. intracellularis* nas fezes por um período de até 3 meses. No mesmo estudo, os autores constataram que leitões de creche começaram a eliminar a bactéria nas fezes com sete semanas de idade e que o pico máximo de eliminação ocorreu entre a 13^a e 16^a semanas.

A infecção na granja geralmente ocorre da porca para o leitão. A persistência da *L. intracellularis* em granjas que adotaram um programa de desmame precoce sugere que a transmissão da bactéria pode ocorrer, nas maternidades, das fêmeas para os leitões (McORIST, GEBHART, 1999). Para estudar a progressão da infecção, Guedes e Gebhart (2004) inocularam leitões com culturas puras de *L. intracellularis* e realizaram necropsia em diferentes dias após a inoculação. Através da técnica da PCR, observaram que havia eliminação fecal da bactéria a partir do 3^o dia após o desafio.

O início e duração da eliminação fecal após o desafio com um isolado patogênico ou com uma cepa vacinal atenuada de *L. intracellularis* foi determinado por Guedes e Gebhart (2003). Nesse estudo os autores verificaram que a eliminação fecal da bactéria patogênica foi inicialmente detectada em uma semana. Posteriormente, a eliminação nas fezes ocorreu, de forma intermitente, até 12 semanas após a inoculação.

A cepa vacinal foi eliminada nas fezes, inicialmente, duas semanas após a exposição e, intermitentemente, até a 9ª semana.

As espécies suscetíveis foram revisadas por Cooper e Gebhart, 1998. A infecção foi detectada em suínos, hamster, coelho, ovelha, cavalo, raposa, furão, cão, primatas e pássaros (ema e avestruz).

2.3 Patogenia

A transmissão horizontal da EPS se dá pela ingestão de fezes contaminadas com a *L. intracellularis* e não há estudos comprovando a transmissão vertical (COOPER, GEBHART, 1998). Segundo os autores, a supressão imunológica do hospedeiro poderia ser um fator de risco para o desenvolvimento da doença.

Com o objetivo de estudar a progressão da infecção com a *L. intracellularis* e a resposta imune na mucosa em suínos, Guedes e Gebhart (2004) desafiaram experimentalmente 20 suínos com um isolado (cultura pura patogênica) e avaliaram o desenvolvimento das lesões macroscópicas e histológicas em diferentes dias após o desafio. Lesões macroscópicas e histológicas sugestivas de EPS estavam presentes nas células imaturas das criptas, detectadas 11 dias após a infecção. A bactéria foi encontrada nas células epiteliais das criptas do intestino através da técnica de imunohistoquímica, a partir de 5 dias até 35 dias após o desafio. Lesões macro e microscópicas não foram observadas 35 dias após a inoculação. A *L. intracellularis* foi encontrada também nos macrófagos dos linfonodos, provavelmente devido à drenagem linfática. Além disso, estava presente no lúmen das criptas epiteliais das tonsilas, mas não havia proliferação celular evidente. Dessa forma, não foi caracterizado o envolvimento das tonsilas na patogênese da infecção. Segundo os mesmos autores, um achado importante foi a presença da *L. intracellularis* nos enterócitos do reto e em várias porções do intestino grosso de suínos infectados. Por isso, o termo “ileíte” para caracterizar a infecção por *L. intracellularis* seria inadequado, pois as lesões no intestino grosso são freqüentes.

Em estudos *in vitro*, McOrist *et al.* (1995b) demonstraram que, 10 minutos após a exposição, a bactéria pode ser encontrada em contato com a membrana de células susceptíveis à infecção. Uma hora após a exposição era encontrada em vacúolos no citoplasma e em três horas após a inoculação livre no citoplasma (multiplicação celular). Até o momento, não são conhecidos os mecanismos exatos de reconhecimento

bactéria-célula epitelial, ou seja, são desconhecidas estruturas como os receptores na célula epitelial e as adesinas bacterianas. Cinco a dez dias após a infecção, as células se rompem liberando as bactérias no meio extracelular, sendo disseminadas através das fezes a outros animais susceptíveis.

Os mecanismos pelo qual a *L. intracellularis* induz a proliferação das células da cripta das vilosidades intestinais ainda são desconhecidos (GUEDES, 2003). Existem presentemente duas teorias: ou a bactéria reduziria a taxa de apoptose celular, ou aumentaria a taxa de multiplicação (mitose) celular. Uma teoria instigante seria a de que, por ser um organismo intracelular, a *L. intracellularis* teria um contato íntimo com a maquinaria de divisão celular do hospedeiro e poderia ter incorporado acidentalmente em seu genoma genes do suíno, capazes de afetar o ciclo de multiplicação celular (McORIST, GEBHART, 2002).

Como consequência da multiplicação celular e a diminuição das células caliciformes, as criptas intestinais apresentam-se alongadas e ramificadas, com várias camadas de células. Isso leva ao engrossamento da parede intestinal, visível macroscopicamente. A desorganização da estrutura histológica ocasiona uma reação fibrinóide superficial, com necrose coagulativa. A hemorragia presente na enteropatia proliferativa hemorrágica poderia ser devida a vazamento de capilares ou a uma reação de hipersensibilidade (McORIST, GEBHART, 1999).

A diarreia é resultante das lesões celulares, que permitiriam a efusão de fluidos. A desorganização celular, inflamação e aumento da pressão hidrostática na mucosa intestinal também favoreceriam a efusão. A presença de grande número de células imaturas no epitélio e a perda de células epiteliais poderiam contribuir a um quadro de má absorção (BARCELLOS, 2004).

2.4 Quadro clínico e patológico

Clinicamente a EPS se manifesta sob duas formas: crônica e a aguda.

2.4.1 Forma crônica

Os casos clínicos crônicos são geralmente observados em suínos após o desmame, entre 6 e 20 semanas de idade e, em muitos casos, tais sinais passam despercebidos, sem haver alteração no consumo de ração. No entanto, com ou sem

diarréia, pode ocorrer um aumento da variação do peso corporal entre animais de mesmo lote (McORIST, GEBHART, 1999).

A EPS crônica também é conhecida pelas denominações de adenomatose intestinal proliferativa, ileíte regional e enterite necrótica. O sinal mais relevante é o emagrecimento transitório em leitões de crescimento (SOBESTIANSKY *et al*, 1999). Existe uma correlação entre o grau de lesão da parede intestinal e o ganho de peso diário (WINKELMAN, 1999). Segundo McOrist e Gebhart (1999), a diarréia, quando presente, é moderada, com fezes de consistência pastosa a líquida e de coloração normal e sem a presença de muco.

2.4.2 Forma aguda

A forma aguda da EPS, também conhecida como enteropatia proliferativa hemorrágica, se manifesta mais em suínos de 4 a 12 meses de idade, principalmente em animais de reposição ou próximos ao peso de abate. Os sinais clínicos observados são palidez da carcaça, fezes escuras a sanguinolentas e amolecidas, e, em muitos casos, morte súbita (MORES *et al.*, 1985, McORIST, GEBHART, 1999). A não exposição à doença anteriormente, programas contínuos de medicações até atingir uma maior idade e sistemas de múltiplos sítios de produção favorecem a manifestação clínica da EPS aguda em animais que não tiveram exposição prévia ao agente (McORIST *et al.*, 2004).

2.4.3 Lesões

Segundo McOrist e Gebhart (1999) os suínos severamente afetados com a EPS crônica apresentam um aspecto cerebróide na serosa intestinal, parede intestinal espessada e projeção das dobras longitudinais e transversais da mucosa. A região do intestino delgado mais afetada é o íleo, mas podem ser encontradas lesões no jejuno, ceco, cólon e reto. Nos casos mais brandos da forma crônica as lesões são menores, com 5 a 10 cm de extensão e podem passar despercebidas (GUEDES, 2003).

A forma aguda da EPS afeta a porção final do íleo e cólon. Intestinos afetados apresentam congestão saliente de vasos sanguíneos da mucosa e acúmulo de sangue no lúmen intestinal (McORIST, GEBHART, 1999). Mores *et al.* (1985) examinando casos espontâneos de EPS aguda constataram uma exacerbação do aspecto reticular da serosa da porção final do jejuno e de grande parte do íleo, associada a grande aumento do

diâmetro do lúmen, hiperemia acentuada da parede e presença de conteúdo intestinal fluido e sanguinolento.

As alterações histopatológicas da doença têm basicamente as mesmas características da EPS crônica (GUEDES, 2003). Observa-se uma proliferação das células epiteliais das criptas de Lieberkühn no intestino delgado e das glândulas mucosas do intestino grosso, com a presença de microorganismos intracelulares curvos na porção apical desses enterócitos (ROWLAND, LAWSON, 1974). Mores *et al.* (1985) também evidenciaram hiperplasia e degeneração do epitélio intestinal, alongamento das criptas, perda parcial das vilosidades, hemorragia e infiltração da lâmina própria por histiócitos e eosinófilos. Entretanto, McOrist e Gebhart (1999) citam que a infiltração de células inflamatórias não é uma característica marcante da enfermidade.

2.5 Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se essencialmente nas alterações encontradas na necropsia e nas lesões histológicas do intestino. O agente pode ser demonstrado no citoplasma das células epiteliais imaturas das criptas, em cortes histológicos corados pela prata ou pelas técnicas de imuno-histoquímica e imunofluorescência (SOBESTIANSKY *et al.*, 1999). Segundo Guedes e Gebhart (2001) existem três formas eficientes de diagnosticar a EPS em animais vivos: sorologia (imunofluorescência indireta), observação de esfregaços de amostras de fezes coradas pela técnica da imunoperoxidase e PCR em amostras fecais. Após a morte dos animais, o exame através da necropsia pode ser sugestivo da doença, mas a confirmação do diagnóstico deve ser obtida através de exame histopatológico.

Quando da manifestação clínica da EPS aguda, a realização de necropsia é de grande importância. As principais lesões presentes no íleo e em menor grau no jejuno e intestino grosso caracterizam-se por espessamento da parede intestinal, edema e congestão do mesentério, aumento na rugosidade da mucosa com pregas espessas e evidentes e presença de conteúdo fibrino-hemorrágico, com coágulos, no lúmen intestinal (GUEDES, 2002). O diagnóstico diferencial deve ser considerado com outras patologias, entre elas, a síndrome intestinal hemorrágica, úlcera gástrica, salmonelose e espiroquetose do cólon (PIEROZAN *et al.*, 2003). Fragmentos do intestino devem ser enviados ao laboratório para a confirmação do diagnóstico através da histologia, utilizando colorações pela prata ou imuno-histoquímica, bem como exame

bacteriológico para afastar a suspeita de infecção por outros agentes como *Salmonella* sp. e *Brachyspira* sp. (GUEDES, 2002).

Nos casos da EPS crônica um diagnóstico precoce e preciso é indispensável para evitar as perdas econômicas ocasionadas pela doença. Segundo Guedes (2002), a detecção de diarreia e/ou a redução do desempenho zootécnico são indicativos clínicos que não devem passar despercebidos e que devem ser encarados como passos iniciais do processo diagnóstico.

Comparando diferentes métodos para o diagnóstico da EPS, Guedes *et al.* (2002b) e Guedes e Gebhart (2001), determinaram que a técnica de PCR, que detecta o DNA da *L. intracellularis* que está sendo eliminado pelas fezes, apresenta alta especificidade e baixa sensibilidade. Por isso, recomendaram que a técnica seja usada com cautela. Esta baixa sensibilidade está provavelmente relacionada à manutenção de fatores inibidores presentes nas fezes durante o processo de extração do DNA. Os testes sorológicos de imunofluorescência indireta em placa ou lâmina (usando culturas puras de bactérias), que demonstram histórico de exposição do animal à *L. intracellularis*, apresentam sensibilidade superior à técnica de PCR e, por isso, oferecem vantagens em estudos epidemiológicos. A técnica de imuno-histoquímica apresenta sensibilidade bem superior à coloração pela prata e por hematoxilina-eosina em cortes histológicos, sendo considerada a melhor ferramenta para diagnóstico em amostras fixadas com formalina. O teste sorológico de imunoperoxidase em monocamada de células é altamente específico e razoavelmente sensível para a detecção de exposição à *L. intracellularis* (GUEDES, 2002).

O cultivo da *L. intracellularis* pode ser obtido em linhagens de células intestinais, mas com dificuldade. Portanto, esta técnica de diagnóstico não é utilizada na rotina. O microorganismo precisa ser purificado a partir de um intestino naturalmente contaminado, requer um ambiente microaerófilo e invade somente células em divisão (GEBHART, GUEDES, 2001).

2.6 Imunologia do trato digestório dos suínos

As respostas imunes celular e humoral representam as maiores formas de defesa do trato gastrintestinal (TGI) de suínos contra microorganismos patogênicos. Segundo Kraehenbuhl e Neutra (1992), o tamanho e a magnitude da carga antigênica que passa pelo TGI faz dele o maior órgão imune do animal, contando com 70 a 80% das células

produtoras de imunoglobulinas do corpo. Além disso, o TGI possui formas inatas e não específicas de defesa. Resumidamente, os mecanismos de defesa imune do intestino são apresentados na Figura 1.

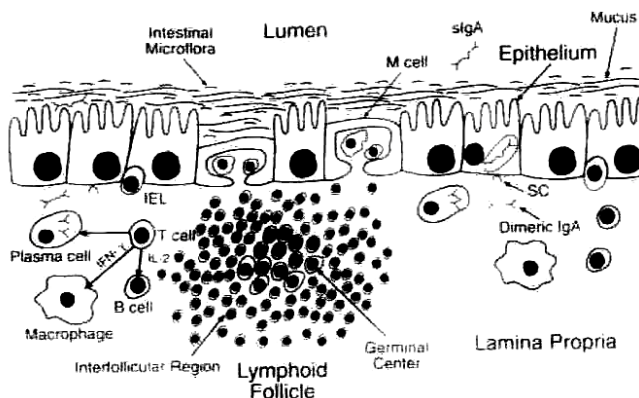


Figura 1: Componentes imunológicos do trato gastrointestinal, segundo Galvin, Harris, Wannemuehler (1997).

Nessa figura podem ser visualizadas as principais características do sistema de defesa imunológico do intestino do suíno. O muco que recobre as microvilosidades do epitélio representa uma barreira inespecífica de proteção em que bactérias, vírus e outros parasitas são recobertos pelas glicoproteínas do muco, fazendo com que sua interação com a superfície epitelial seja retardada ou mesmo inibida. A ação peristáltica do intestino causa um movimento de expulsão do muco e dos microorganismos aprisionados no mesmo. Uma outra forma de defesa inespecífica é exercida pelas bactérias da microbiota normal (anfibiótica) do TGI, que exercem uma forma de exclusão competitiva em relação a patógenos intestinais (SEADI, 1998).

As células do trato intestinal representam uma barreira física à passagem de bactérias. Aqueles microorganismos capazes de colonizar o epitélio ou invadir as células da camada epitelial e eventualmente ultrapassá-la, encontrarão mecanismos de defesa presentes tanto na superfície celular quanto na lâmina própria. Entre esses, destacam-se as defesas relacionadas com a imunidade celular (neutrófilos, macrófagos, células dendríticas) e a imunidade humoral e de mucosa (GALVIN, HARRIS, WANNEMUEHLER, 1997).

Na mucosa dos intestinos delgado e grosso existem estruturas com acúmulo de células linfóides, de grande importância na indução das respostas imunes humoral ou celular. Esses locais coletivamente são chamados de tecidos linfóides organizados (associados) da mucosa. No intestino delgado apresentam-se como placas de Peyer ou

nódulos linfáticos isolados na mucosa e, no cólon, como agregados (nódulos) linfáticos (SEADI, 1998).

A maioria dos agentes entra em contato com células do sistema imune após um trânsito através de células M, que são células naturalmente fagocíticas presentes na superfície intestinal e cuja principal função é a amostragem de antígenos do interior do intestino e a sua apresentação a macrófagos da sub mucosa. As células M localizam-se preferencialmente nas áreas adjacentes às placas de Peyer. A constante apresentação de antígenos pelas mesmas resulta na estimulação regular de células do sistema imune localizadas nos folículos das placas de Peyer (GALVIN, HARRIS, WANNEMUEHLER 1997). No centro germinativo destes folículos estão principalmente as células B que, quando diferenciadas em plasmócitos, produzirão as imunoglobulinas tipo A (IgA). O conjunto de citocinas, secretadas pelas células T *helper* (Th) CD4⁺, influenciam e regulam a diferenciação de linfoblastos localizados no centro germinal. Na região interfolicular o predomínio é de células CD3⁺, como por exemplo, os linfócitos T. Nos folículos linfóides, há um pequeno número de células apresentadoras de antígenos (células dendríticas e macrófagos) e um maior número de linfócitos T CD4⁺ / CD8⁺. Esses linfócitos T CD4⁺ / CD8⁺, presentes na região interfolicular, determinam respectivamente, 65% e 25% das células CD3⁺ que são as células precursoras das células citotóxicas (GALVIN, HARRIS, WANNEMUEHLER 1997). As células CD4⁺ têm sido divididas funcionalmente em células Th1 que secretam interferon gama (IFN- γ) e interleucina 2 (IL-2) e em células Th2, que secretam as citocinas IL-4, IL-5 e IL-6. De maneira geral, se considera que as células Th1 são responsáveis pela indução da imunidade celular e as Th2 pela imunidade humoral (ROITT, BROSTOFF, MALLE, 1998).

O compartimento efetor do sistema imune intestinal é o tecido linfóide da mucosa. Esses estão em proximidade com o lúmen intestinal e, nesse local, os linfócitos podem mediar suas funções de interação com os antígenos. Dentro da lâmina própria, os linfócitos T representam entre 20 a 40% das células existentes. Aproximadamente 65% dessas células são CD4⁺ e 25% são CD8⁺. A função primária das células CD4⁺ é auxiliar as células B a produzir anticorpos. Nas placas de Peyer do intestino, há um número aproximadamente igual de células CD4⁺ Th1 e Th2, enquanto que na lâmina própria há um predomínio do tipo Th2 (ROITT, BROSTOFF, MALLE, 1998).

As principais imunoglobulinas responsáveis pela defesa intestinal são da classe IgA. As suas funções biológicas primárias são a inibição da aderência de bactérias, neutralização viral e exclusão imune de antígenos solúveis (ROTH, 1999).

2.7 Desenvolvimento da imunidade para *L. intracellularis*

A resposta imune inicial para *L. intracellularis* provavelmente seja gerada nos nódulos linfáticos mesentéricos, as células ativadas passam pelo epitélio intestinal e chegam à lâmina própria. Nesse local, os plasmócitos (células B diferenciadas) produzem anticorpos das classes IgA e IgG em resposta à estimulação do antígeno. Um pequeno número de IgG produzido pelos plasmócitos é direcionado para a circulação sistêmica, onde seus produtos podem ser detectados por sorologia. É provável que a IgA secretora para *L. intracellularis* esteja presente no lúmen intestinal nas re-infecções e, pelo fato de prevenir a entrada da bactéria nas células da mucosa intestinal, venha a diminuir a resposta imune secundária (COLLINS *et al.*, 2001). Os mesmos autores citam que, em nenhum dos trabalhos revisados, a duração da imunidade passava de sete semanas após ter cessado a eliminação da *L. intracellularis* pelas fezes.

O desenvolvimento de imunidade protetora contra *L. Intracellularis* tem sido demonstrada em surtos naturais de EPS aguda e através de infecções experimentais em suínos. Estudando dois surtos sequenciais em granjas que criavam leitões com um mínimo de doenças, Love, Love e Edwards (1977) observaram no primeiro episódio alta suscetibilidade em machos e fêmeas do plantel, de diferentes idades, e o surto foi controlado com o uso de antimicrobianos. O segundo surto ocorreu 2 a 3 semanas mais tarde, afetando somente machos e fêmeas introduzidas após a primeira infecção da *L. intracellularis*. Os suínos previamente expostos a *L. intracellularis* (primeiro episódio), não desenvolveram os sinais clínicos da forma aguda, provavelmente em função de imunidade. Em outro estudo, Collins *et al.* (1999) detectaram níveis de IgG no soro, provenientes de uma resposta secundária após a re-infecção.

Com o objetivo de verificar se a imunidade poderia ser diminuída ou suprimida pela medicação com antimicrobiano e ainda assim permitir o desenvolvimento de imunidade após re-infecções, Collins *et al.* (2000b) forneceram 400 ppm de clortetraciclina na ração, quatro dias antes do desafio com *L. intracellularis*, a um grupo de animais e, a outro grupo (controle), não incluíram o antimicrobiano na ração. Após 31 dias os animais foram re-infectados. Nos controles re-infectados, amostras positivas

por PCR e sorologia foram detectadas em quatro de cinco suínos 2 a 3 semanas após o desafio. Os suínos medicados não mostraram evidência da infecção para a *L. intracellularis* quando foram monitorados através da PCR das fezes ou pela medida de anticorpos no soro entre 0 e 28 dias após o desafio.

Em outro estudo, McOrist, Smith e Collins (2004) concluíram que níveis contínuos de antimicrobianos contra a *L. intracellularis*, administrados anteriormente à exposição, podiam prevenir a infecção. Entretanto, essa medicação impediu o desenvolvimento de imunidade e estendeu a susceptibilidade à infecção.

Pozo *et al.* (2000) desenvolveram um experimento com o objetivo de investigar se o leite das fêmeas poderia proteger leitões contra a infecção pela *L. intracellularis*. Concluíram que havia variação na habilidade das mães em conferir proteção aos leitões através do leite, em função das diferenças no seu status imunitário. Foi observado que fêmeas com infecção recente protegeram melhor seus filhos quando comparadas àquelas que tinham sido expostas à bactéria há mais tempo (anos). A proteção conferida através do leite poderia estar ligada com a veiculação de anticorpos, possivelmente da classe IgA.

Segundo Gebhart e Guedes (2001), existem poucas informações sobre a resposta imune do hospedeiro contra a *L. intracellularis*, que seriam fundamentais para a avaliação das estratégias de controle e prevenção conferida por vacinas. Medindo a resposta humoral contra a *L. intracellularis* através da técnica de IFI (imunofluorescência indireta). Winkelman *et al.* (1998) verificaram títulos de IgG de 1:30 duas semanas após o desafio. Três semanas após o desafio 90% dos animais foram positivos e 5% mostraram títulos de 1:480. A soroconversão em suínos na fase de crescimento durante um surto natural de EPS levou a títulos de IgG entre 1:30 a 1:60, decaindo em média três a quatro semanas após. Mas também, após outros surtos naturais da forma aguda da enfermidade, os títulos de IgG foram bem mais altos (1:1920) e caíram pela metade após três semanas (GEBHART, GUEDES, 2001).

Com o objetivo de verificar o momento e a duração da resposta imune humoral e celular, foi conduzido um experimento, vacinando ou desafiando os suínos. As respostas humoral e celular foram inicialmente detectadas duas semanas após o desafio e cinco semanas após a vacinação. As duas respostas ainda estavam presentes 13 semanas após o desafio ou a vacinação (GUEDES *et al.*, 2002c; GUEDES, GEBHART, 2003).

Quanto à forma aguda (enteropatia proliferativa hemorrágica), após um surto, leitões apresentaram altos níveis de anticorpos no soro. Esses diminuiram ao longo do

tempo, mas em alguns casos puderam ser detectados por mais de três meses após o surto. Em alguns leitões filhos de fêmeas positivas ao parto, a imunidade passiva foi detectada por mais de cinco semanas e o período em que ocorreu maior soroconversão foi entre as semanas 19 e 22 (GUEDES *et al.*, 2002a).

Segundo Guedes e Gebhart (2004), existem poucos estudos específicos sobre o tipo de resposta imune na mucosa em suínos infectados com *L. intracellularis*. Eles conduziram um trabalho objetivando avaliar a produção de IgA secretora específica e os resultados estão sumarizados na tabela a seguir.

Tabela 2 - Títulos de IgA de lavado intestinal, oriundos de suínos experimentalmente infectados (2 suínos em cada data) em diferentes períodos após a inoculação.

Título	Número de dias após a inoculação									
	1	3	5	8	11	15	19	24	29	35
IgA	NT ^a	NT	NT	NT	-/-	-/1:4	1:4/1:4	1:16/1:4	-/1:4	-/-

^a = Não testado, adaptado de Guedes e Gebhart (2004).

Os títulos de IgA presentes em lavados intestinais foram detectados entre 15 e 29 dias pós-desafio, variando entre 1:4 a 1:16. Esse estudo indicou que a resposta imune humoral local seria mais curta do que a resposta imune humoral sistêmica e que a resposta imune mediada por células.

2.8 Vacinas e vacinações para Enteropatia Proliferativa Suína

Há uma constatação nos países, em que a suinocultura é praticada de forma intensiva, do uso excessivo de antimicrobianos nas rações. Uma das principais razões para a inclusão desses produtos é o controle da infecção pela *L. intracellularis*. Por isso, o desenvolvimento de uma vacina para a EPS poderia oferecer uma alternativa para o controle e seria uma forma mais amigável em termos da percepção do mercado consumidor, na redução do risco da presença de resíduos de antibióticos na carne e na redução dos riscos de indução de resistência antimicrobiana (McORIST, SMITH, COLLINS, 2004). O produto é um cultivo vivo de cepa modificada (atenuada) da bactéria e vem sendo utilizado em vários países. Algumas considerações em relação a esse tipo de vacina foram resumidas por Roof (2001):

- A via de transmissão da *L. intracellularis* é fecal oral, com a infecção ocorrendo no trato intestinal. Dessa forma, o uso de uma vacina viva por via

oral, que induziria uma resposta imune direta na mucosa intestinal, poderia contribuir para a prevenção da adesão do agente e para evitar a invasão celular;

- A *L. intracellularis* é um patógeno intracelular obrigatório. Por isso, a indução da resposta imune celular poderia ser importante no controle de células infectadas;
- Os fatores de virulência da bactéria e o potencial da eficiência de uma resposta imune sistêmica são desconhecidos;
- Dentre os quatro tipos potenciais de vacina para a vacinação contra a *L. intracellularis* (vacinas mortas, vacinas vivas, vacinas de subunidades/recombinantes e vacinas de DNA) a que melhor funcionou nos testes realizados até o momento foi a vacina viva atenuada ou modificada. Essa possui habilidade em induzir respostas humoral, celular e de mucosa, quando inoculada por via oral.

O primeiro estudo publicado sobre a efetividade de um isolado intracelular avirulento de *L. intracellularis* usado como vacina oral viva para a prevenção da EPS foi de Knitell *et al.* (2000). Neste estudo, os autores verificaram redução no desenvolvimento de lesões, menor eliminação fecal e menor perda de produtividade em suínos com EPS. A seguir, vários trabalhos foram publicados em muitos países avaliando esse mesmo imunógeno. Um resumo dos mesmos consta da Tabela 3.

Entre o conjunto das variáveis analisadas nesses trabalhos, selecionamos aquelas mais viáveis em termos das peculiaridades das unidades de crescimento e terminação da integração localizadas no Oeste Catarinense (conversão alimentar, ganho de peso diário, taxa de mortalidade, terapia de lote, consistência das fezes, ocorrência de diarreia e coeficiente de variabilidade do peso de carcaças).

Tabela 3 - Resumo dos resultados de estudos sobre a vacinação contra a infecção por *L. intracellularis*.

Nº	Ano	Fonte	Referência	Fase de criação	Resultados
1	2000	IPVS	Knitell <i>et al.</i>	C	< lesões, > desempenho zootécnico e > uniformidade no peso de abate.
2	2002	IPVS	Waddell <i>et al.</i>	F, L, C, T	< dos sinais clínicos, conversão sorológica, < de lesões na necropsia.
3	2002b	IPVS	Sick, Hayes e Kolb	C, T	< dos sinais clínicos e mortalidade, > da taxa de crescimento, custo/benefício favorável.
4	2002	IPVS	Wonderlich e Michels	F, L	< mortalidade (EPH), < dos sinais clínicos, < na taxa de reposição de reprodutoras e < uso de antimicrobianos.
5	2002	IPVS	Kolb e Michels	C, T	Tendência em > GPD e > o consumo. Sem # estatística (P>0,20) sobre CA, <no custo de produção (US\$ 0,7/animal) e subjetivamente foi observada > uniformidade peso abate.
6	2002	IPVS	Feder	C, T	< dos sinais clínicos de EPH e < nos custos de medicação.
7	2002	IPVS	Kroll, Knittel e Schwartz	Cr	< nas lesões macro e microscópicas.
8	2002a	AASV	Sick, Hayes e Kolb	Cr ao abate	< dos sinais clínicos, mortalidade, tratamentos e > na taxa de crescimento.
9	2003	AASV	Kolb e Sick	Final Cr, C e T	< dos sinais clínicos, < custos de produção, < na mortalidade e > no GPD.
10	2003	AASV	Waddell <i>et al.</i>	F, L, C e T	< sinais clínicos e lesões macroscópicas.
11	2004	AASV	Kesl <i>et al.</i>	Cr a 91 dias	> CA durante (8 s) avaliação. No período pós-desafio (4 s) não houve # .
12	2004a	AASV	Connor <i>et al.</i>	Cr a 80 dias	Não houve interferência do uso de bacitracina, > CA e < as lesões intestinais.
13	2004	AASV	Walter <i>et al.</i>	Cr a 63 dias	Quanto < a dose infectante, < imunidade e o benefício econômico.
14	2004b	IPVS	Kroll <i>et al.</i>	Cr	Não houve interferência com os anticorpos maternos.
15	2004	IPVS	Hardge <i>et al.</i>	Cr ao abate	< de variação no peso de carcaça, > peso final, > GPD, > valorização da carcaça.
16	2004	IPVS	Armbruster <i>et al.</i>	Cr a 91 dias	> CA (8 s). No período pós-desafio (4 s) não houve #.
17	2004	IPVS	Kolb, Sick e Walter	Cr ao abate	> valor econômico da carcaça, atribuído as variáveis de desempenho.
18	2004	IPVS	Meyns <i>et al.</i>	L	Boa segurança em leitões pré-cobertura.
19	2004	IPVS	Pelger <i>et al.</i>	Cr a 84 dias	Não houve # de desempenho. Desenvolvimento da imunidade # de outros estudos.
20	2004	IPVS	Kolb e Sick	Cr a 91 dias	Não houve # desempenho.
21	2004	IPVS	Keller, Ohlinger e Voets	Exame de água	Boa estabilidade na água (até 4 horas).
22	2004	IPVS	Keita <i>et al.</i>	Cr	Proteção contra a infecção por <i>L. intracellularis</i> .
23	2004c	IPVS	Kroll <i>et al.</i>	Cr	> índices de desempenho zootécnico.
24	2004a	IPVS	Kroll <i>et al.</i>	Cr	Leitões podem ser imunizados sucessivamente até mesmo na presença de anticorpos maternos.
25	2004d	IPVS	Kroll <i>et al.</i>	Cr a 63 dias.	Dose única é suficiente para imunizar os leitões e < lesões macro e microscópicas.
26	2004b	IPVS	Connor <i>et al.</i>	Cr a 80 dias.	Não houve interferência do uso de bacitracina, > CA e < as lesões intestinais.

> = melhorou ou aumentou, < = diminuiu ou piorou, # = diferença, CA = conversão alimentar, s = semanas, GPD = ganho de peso diário, F = fêmeas, L = leitões, Cr = creche, C = crescimento, T = terminação, IPVS = International Pig Veterinary Society, AASV = American Association of Swine Veterinarians.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O experimento foi conduzido em uma Empresa Integradora de suínos e aves situada na Região Oeste do estado de Santa Catarina - Brasil.

3.2 Período

O experimento iniciou a partir da segunda quinzena do mês de Maio de 2004 e terminou na primeira quinzena do mês de Dezembro de 2004.

3.3 Animais

Foram utilizados leitões oriundos de Unidades Produtoras de Leitões (UPLs), pesando em média 24 kg e com uma idade variando entre 60 e 70 dias. Para a formação dos lotes experimentais houve a mistura de animais de várias origens (granjas de UPL), em média de 12 por lote. Dada a alta prevalência de *L. intracellularis* entre as granjas produtoras de leitões no nosso meio, conforme citado no item “epidemiologia” e nos resultados dos testes de avaliação da soroconversão realizados numa amostragem de granjas da integração (Figura 2), não foi julgada necessária uma avaliação prévia específica das UPL's quanto à positividade para a infecção com a *L. intracellularis*. Existia outra evidência da presença da infecção clínica nos plantéis da integração, que era a ocorrência rotineira de surtos espontâneos de enteropatia proliferativa hemorrágica em fêmeas de reposição por ocasião da adaptação (aclimatização) nas granjas de destino.

3.4 Instalações

As instalações em que os animais foram alojados eram de alvenaria, com pé direito de 3 m de altura, a largura de 8,20 m e o comprimento variava conforme a capacidade de alojamento. A cobertura era com telha tipo barro ou cimento amianto de 4 mm e possuía forração e cortinas tipo ráfia. As baias eram de divisórias e pisos compactos, com capacidade para alojar 10 animais (1 animal por m²). O fornecimento

da ração era em comedouros do tipo basculante com um espaço de 33 cm para cada animal e a água de beber era fornecida em bebedouro do tipo taça. Externamente o galpão possuía um silo metálico para armazenar a ração, arborização lateral, calhas coletoras de efluentes e um depósito de dejetos dimensionado com capacidade de armazenagem para 120 dias.

3.5 Manejo em geral

Os manejos de arraçamento, controle ambiental, limpeza diária, desinfecção pré-alojamento e tempo de jejum pré-abate foram similares entre os lotes experimentais, por estarem padronizados na integração.

3.6 Tratamentos

Os tratamentos e as rações fornecidas durante o período experimental estão especificados na Tabela 4. Foram usados 8 tipos de rações. Na ração chamada “pulso” foram usados antimicrobianos em doses terapêuticas, enquanto que na ração de “manutenção” os níveis eram preventivos. A ração “retirada” não tinha antimicrobianos e era usada para os animais no período final da terminação. As rações S61 e S64 não tinham antimicrobianos e diferiam entre si nos níveis nutricionais.

Os animais foram submetidos a quatro tratamentos, em delineamento fatorial 2 x 2, sendo avaliado o efeito de dois fatores: a administração ou não da vacina Enterisol[®] Ileitis e o fornecimento contínuo de ração com antimicrobianos ou descontínuo de ração com antimicrobianos, durante o período de crescimento e terminação (Tabela 4).

Tabela 4 - Detalhamento dos tratamentos avaliados.

Tratamento	Descrição	Sigla da ração	Tipo de Ração	Ração por animal (kg)	Tempo de consumo (dias)
T1	Ração com antimicrobianos (padrão da Empresa)	S-41 A	Pulso	15	14
		S-41 B	Manutenção	30	20
		S-41 D	Pulso	20	13
		S-41 B	Manutenção	70	37
		S-43 A	Pulso	20	10
		S-43 F	Manutenção	60	25
		S-44	Retirada	60	25
T2	Sem antimicrobianos nas rações S-61 e S-64 e com a vacina Enterisol [®] ileitis	S-41 A	Pulso	15	14
		S-61*	Sem antimicrobianos	30	20
		S-41 D	Pulso	20	13
		S-61	Sem antimicrobianos	70	37
		S-43 A	Pulso	20	10
		S-64	Sem antimicrobianos	60	25
T3	Sem antimicrobianos nas rações S-61 e S-64 e sem a vacina Enterisol [®] ileitis	S-41 A	Pulso	15	14
		S-61	Sem antimicrobianos	30	20
		S-41 D	Pulso	20	13
		S-61	Sem antimicrobianos	70	37
		S-43 A	Pulso	20	10
		S-64	Sem antimicrobianos	60	25
T4	Ração com antimicrobianos e com a vacina Enterisol [®] ileitis	S-41 A	Pulso	15	14
		S-61	Sem antimicrobianos	15	10
		S-41 B	Manutenção	20	10
		S-41 D	Pulso	20	13
		S-41 B	Manutenção	70	37
		S-43 A	Pulso	20	10
		S-43 F	Manutenção	60	25
		S-44	Retirada	60	25

* A ração S61 (sem antimicrobianos) foi fornecida por aproximadamente 5 dias antes e 5 após a administração da vacina. A sigla das rações demonstra haver diferenças entre si considerando níveis nutricionais e/ou antimicrobianos.

O número de lotes e de animais que fizeram parte do experimento é apresentado na Tabela 5. Foi considerado como unidade experimental o lote. Cada um continha, em média, 422 leitões alojados.

Tabela 5 - Distribuição dos animais de acordo com os tratamentos avaliados.

Parâmetros	Tratamentos				Total
	1	2	3	4	
Lotes (n°)	32	32	32	32	128
Animais alojados (n°)	12.540	12.573	15.276	13.641	54.030
Animais abatidos (n°)	12.120	12.154	14.717	13.184	52.175

T1= Sem vacina e com fornecimento contínuo de ração com antimicrobianos.

T2= Com vacina e fornecimento descontínuo de ração com antimicrobianos.

T3= Sem vacina e fornecimento descontínuo de ração com antimicrobianos.

T4= Com vacina e fornecimento contínuo de ração com antimicrobianos.

3.7 Determinação do período de infecção pela *L. intracellularis*

Para determinar o melhor momento de administrar a vacina aos animais, foi realizada previamente ao experimento uma sorologia em cinco períodos distintos de alojamento nas terminações. O objetivo foi o de determinar o momento aproximado da infecção e decidir o melhor período de uso da vacina, usando a recomendação de aplicar o produto no mínimo 3 a 4 semanas antes da infecção. As análises foram realizadas da seguinte forma:

- 1ª sorologia até 07 dias de alojamento;
- 2ª sorologia aos 28 dias de alojamento;
- 3ª sorologia aos 49 dias de alojamento;
- 4ª sorologia aos 70 dias de alojamento;
- 5ª sorologia aos 91 dias de alojamento.

Para melhorar a representatividade da amostragem, o procedimento foi repetido, levando em consideração as mesmas origens de leitões da primeira sorologia, porém em outras terminações. Os soros foram enviados para o laboratório TECSA de Belo Horizonte que fez o diagnóstico através da prova de imunofluorescência indireta (kit comercial "Ileitest"). Foram amostrados 30 animais por lote, sob uma população média de 420 animais, estimando uma prevalência de 30%, um nível de confiança de 95% e um erro aceitável de 15,8%, segundo critérios sugeridos por Toma *et al.* (1999). No total foram amostrados 300 animais (60 animais em cada período de alojamento).

3.8 Administração da vacina

A vacina Enterisol[®] ileitis, produzida pelo laboratório Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. (Estados Unidos da América), através de passagens seriadas em cultivos celulares, foi administrada aos animais entre a 3^a e 4^a semana de alojamento (três a quatro semanas antes do período da soroconversão). Sua apresentação era em frascos com capacidade para 10 doses, liofilizada e acompanhada de um diluente (frascos de 20 mililitros). Foi acondicionada em temperatura entre 2 e 8 °C, onde se retirava somente a quantidade de doses necessária para cada lote vacinado. A concentração de *L. intracellularis* era de $5,3 \times 10^5$ organismo / mililitro. A via de administração foi através da água de beber, respeitando os períodos mínimos de três dias antes e três dias após a vacinação sem antimicrobianos na ração e sem cloro na água (KOLB, MICHELS, 2002). Um dia antes de vacinar os animais, foi medido o consumo médio diário de água dos animais, com o objetivo de ajustar um período de ingestão de água com a vacina entre 4 a 6 horas. Os bebedouros disponíveis eram do tipo taça.

3.9 Observações clínicas, critérios de medicação dos lotes e confirmação laboratorial

A observação clínica das diarreias foi realizada pela observação visual da área perineal dos leitões e das fezes presentes no piso das baias. Os parâmetros considerados para medir o índice de diarreia foram consistência das fezes, número de baias afetadas e tempo decorrido a partir da semana 8 de alojamento até o abate. A decisão de registrar os dados a partir dessa semana obedeceu a lógica de aguardar os feitos de geração da imunidade vacinal antes do início da coleta dos dados. A observação da consistência das fezes e número de baias afetadas foi realizada diariamente pelos produtores responsáveis pelo manejo de cada unidade de terminação. Antes de serem iniciados os trabalhos, foi realizado treinamento prévio de todos os envolvidos, através de uma exposição oral e distribuição de figura com representação fotográfica da consistência das fezes, seguindo os critérios sugeridos por Barcellos e Sobestiansky (2003), Apêndice 1. Para fins de definição como “diarreia”, foram consideradas as consistências cremosa, pastosa, líquida ou hemorrágica. Os resultados finais dessa variável foram expressos como um índice, calculado através da seguinte fórmula: n° de baias com

diarréia no período de observação (semanas 8 a 20) X 100 / nº total de baias alojadas X tempo de permanência no lote.

Um modelo da ficha adotada para cálculo desse índice consta do Apêndice 2. Ao ser constatado acima de 5% dos animais com diarréia líquida ou hemorrágica, o veterinário era envolvido. Ficava a seu critério a decisão de medicar ou não esses e outros lotes. Neste caso os animais foram medicados via água. Numa prevalência abaixo de 5%, caso julgado necessário, os animais eram medicados por via parenteral. Os tratamentos foram realizados usando as drogas descritas como eficientes contra as bactérias identificadas (HENRY, APLEY, 1999).

Na presença de sinais clínicos de diarréias consideradas significativas, foram realizados exames histopatológicos, bacteriológicos, parasitológicos e PCR para diagnóstico diferencial de EPS e as infecções por *Brachyspira* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. *Trichuris* spp. e *E. coli*. No caso do PCR, o material foi enviado para o laboratório da USP (Universidade de São Paulo – SP) e o restante foi processado no Laboratório Central da própria Empresa.

3.10 Análise estatística

Dos 128 lotes iniciais, um foi eliminado durante o período experimental, devido a danos causados no galpão por ventos seguido de chuva com granizo. Na análise da variável conversão alimentar, foi eliminado um lote cuja resposta foi 4,5 desvios acima da média. Quatro lotes foram eliminados por problemas na base de dados, pois apresentavam peso inicial igual para todos os leitões do lote, portanto com coeficiente de variação (CV) igual a zero. Dessa forma, restaram 122 lotes para análise de CV de peso inicial de alojamento e final da carcaça quente. Nos dados de peso inicial, foram desconsiderados 3 animais com peso inicial abaixo de 15 quilos e 6 animais com peso inicial acima de 40 quilos devido ao alto desvio em relação à média de todos os animais (desvio padrão maior que 5,3). Além disso, não foram incluídos nessa análise animais com peso de carcaça quente abaixo de 50 e acima de 120 quilos, respectivamente 309 e 217 pesos. Este corte foi efetuado levando em conta o aproveitamento industrial das carcaças.

As variáveis submetidas à análise estatística foram a conversão alimentar, o ganho de peso diário, o percentual de mortalidade, o peso da carcaça quente, o coeficiente de variação de peso da carcaça quente e o peso inicial. Pelo fato de não

seguir uma distribuição normal, os dados da variável percentual de mortalidade foram submetidos à transformação arco-seno.

Os dados foram analisados pelo procedimento GLM (Modelo Linear Geral) do SAS (1998), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. Nos modelos de análise foi avaliado o efeito da vacinação, do esquema de medicação utilizado (fornecimento contínuo ou descontínuo de ração com antimicrobianos) e de sua interação. O peso médio inicial dos lotes foi mantido como co-variável, nos modelos de análise da conversão alimentar, do ganho de peso diário, do percentual de mortalidade e do peso da carcaça quente. Na análise do coeficiente de variação do peso da carcaça quente, foi mantido, como co-variável, o coeficiente de variação do peso inicial. Os percentuais de lotes medicados em cada tratamento foram comparados pelo teste de Fisher.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação do momento da vacinação

Os resultados do experimento de determinação do perfil de conversão sorológica para *L. intracellularis* através da técnica de imunofluorescência indireta constam da Figura 2.

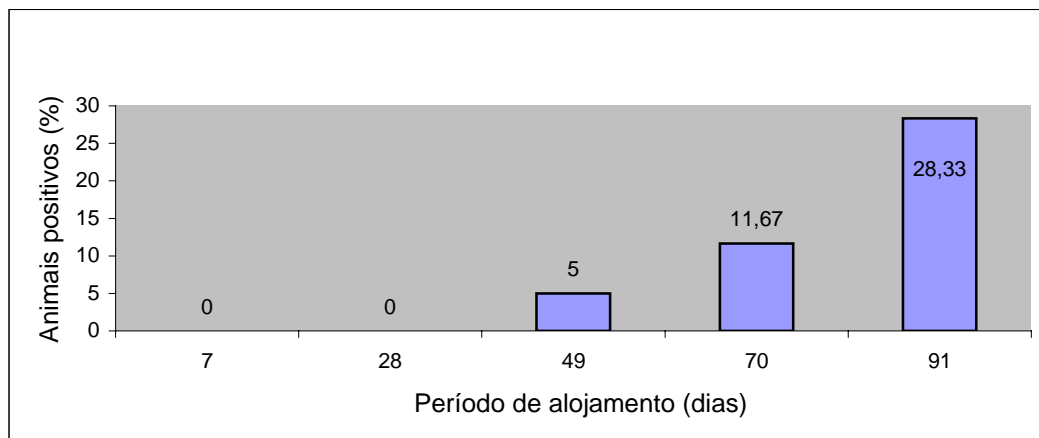


Figura 2: Perfil sorológico para a infecção por *L. intracellularis* nas fases de crescimento e terminação dos suínos.

Foi observado o início da detecção de anticorpos a partir do dia 49 (aproximadamente 119 dias de idade). Com base na recomendação de que a vacinação fosse efetuada no mínimo 21 dias antes da data do início da observação da conversão sorológica, foi decidida a aplicação da vacina entre 21 a 28 dias de alojamento (aproximadamente entre 91 a 98 dias de idade). Além disso, permitiu seguir o padrão de arraçamento com o uso de uma ração, inicial do experimento, contendo antimicrobianos com dosagens terapêuticas.

4.2 Avaliação estatística de dados zootécnicos e sanitários

Não houve efeito da interação da vacinação com o esquema de medicação (contínuo X descontínuo, $P > 0,05$). Assim, os dados são apresentados comparando animais com e sem vacinação, Tabela 6.

Tabela 6 - Desempenho zootécnico de acordo com a vacinação ou não para a EPS (enteropatia proliferativa suína).

Variáveis	Com vacina	Sem vacina	Valor de P
Ganho de peso diário (kg)	0,709 ± 0,03	0,709 ± 0,02	0,894

Conversão alimentar (kg)	2,615 ± 0,07	2,640 ± 0,07	0,034
Mortalidade (%)	3,30 ± 1,07	3,38 ± 1,50	0,928
Peso da carcaça (kg)	90,98 ± 3,77	90,86 ± 3,64	0,853
CV inicial (%)	12,16 ± 1,63	12,00 ± 1,56	0,580
CV final (%)	11,73 ± 0,88	12,01 ± 0,95	0,079

CV inicial = Coeficiente de variação do peso inicial no alojamento.

CV final = Coeficiente de variação do peso final de carcaça quente.

Houve efeito da vacinação na conversão alimentar ($P < 0,05$), a qual foi melhor nos animais vacinados. Além disso, ocorreu uma tendência ($P = 0,079$) dos animais vacinados em apresentar menor coeficiente de variação no peso da carcaça quente.

A Tabela 7 apresenta os resultados da avaliação dos dois esquemas de medicação utilizados.

Tabela 7 - Desempenho zootécnico de acordo com o uso contínuo ou descontínuo de antimicrobianos na ração de crescimento e terminação de suínos.

Variáveis	Antimicrobianos na ração		Valor de P
	Contínuo	Descontínuo	
Ganho de peso diário (kg)	0,713 ± 0,02	0,705 ± 0,02	0,078
Conversão alimentar (kg)	2,631 ± 0,08	2,624 ± 0,06	0,573
Mortalidade (%)	3,24 ± 1,19	3,44 ± 1,40	0,416
Peso carcaça (kg)	91,33 ± 3,66	90,50 ± 3,71	0,209
CV inicial (%)	12,10 ± 1,49	12,06 ± 1,69	0,889
CV final (%)	12,10 ± 0,91	11,64 ± 0,89	0,005

CV inicial = Coeficiente de variação do peso inicial dos leitões no alojamento.

CV final = Coeficiente de variação do peso final de carcaça quente.

Os animais que receberam medicação com antimicrobianos de forma descontínua tenderam a ganhar menos peso ($P = 0,078$) que os animais que receberam ração com antimicrobianos de forma contínua (Tabela 7). O coeficiente de variação de peso da carcaça quente foi menor ($P < 0,05$) nos animais que receberam ração de forma descontínua com antimicrobianos em comparação aos que receberam ração com antimicrobianos de forma contínua.

Na Tabela 8, é realizada uma análise das medicações nos animais de diferentes tratamentos, em função dos casos clínicos de diarreia.

Tabela 8 - Percentual de lotes medicados em função da incidência de diarreia acima de 5% dos animais.

Tratamentos		Aplicação de medicação (lotes afetados / total)
T1	Sem vacina e com fornecimento contínuo de ração com antimicrobianos	3/32 (9,4%) ^a
T2	Com vacina e fornecimento descontínuo de ração com antimicrobianos	3/32 (9,4%) ^a
T3	Sem vacina e fornecimento descontínuo de ração com antimicrobianos	8/32 (25,0%) ^a
T4	Com vacina e fornecimento contínuo de ração com antimicrobianos	3/31 (9,7%) ^a

Valores seguidos de letras iguais na mesma coluna indicam semelhança entre os tratamentos ($P>0,05$).

Foi observado que dos 127 lotes foram medicados 17. Entre os lotes medicados por diarreia não houve diferença entre os tratamentos, bem como quando comparado entre lotes vacinados ou não e medicação contínua e descontínua.

4.3 Avaliação da consistência das fezes

A figura 3 apresenta, entre os diferentes tratamentos, o índice para diarreia que foi calculado de acordo com a fórmula descrita no item 3.9. Para geração do mesmo, foram amostrados 54 lotes, distribuídos da seguinte forma dentro dos tratamentos:

T1 = 10 lotes, T2 = 18, T3 = 13, T4 = 13.

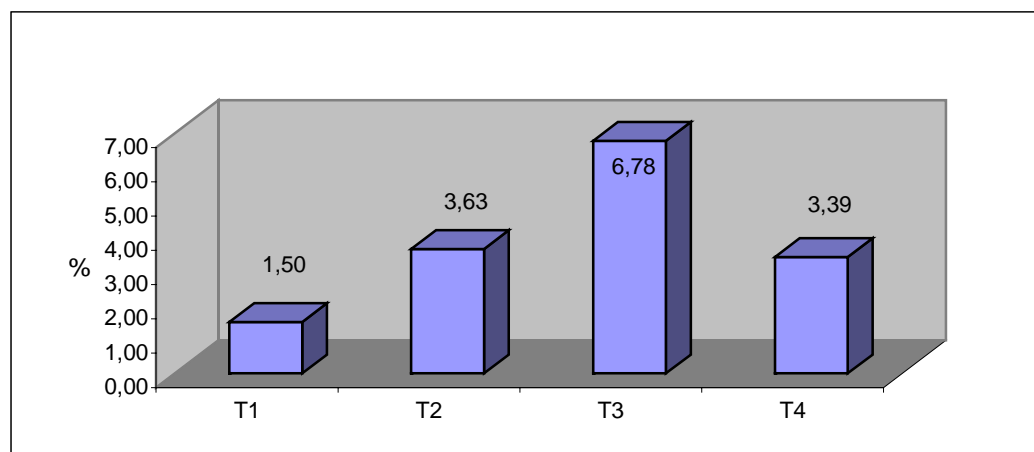


Figura 3: Índice de diarreia entre os diferentes tratamentos.

Houve um maior índice de diarreia em animais do grupo controle (com medicação descontínua e sem vacinação).

A figura 4 apresenta o índice de diarreia com diferentes consistências de fezes (pastosas, cremosas, líquidas ou hemorrágicas) entre os diferentes tratamentos.

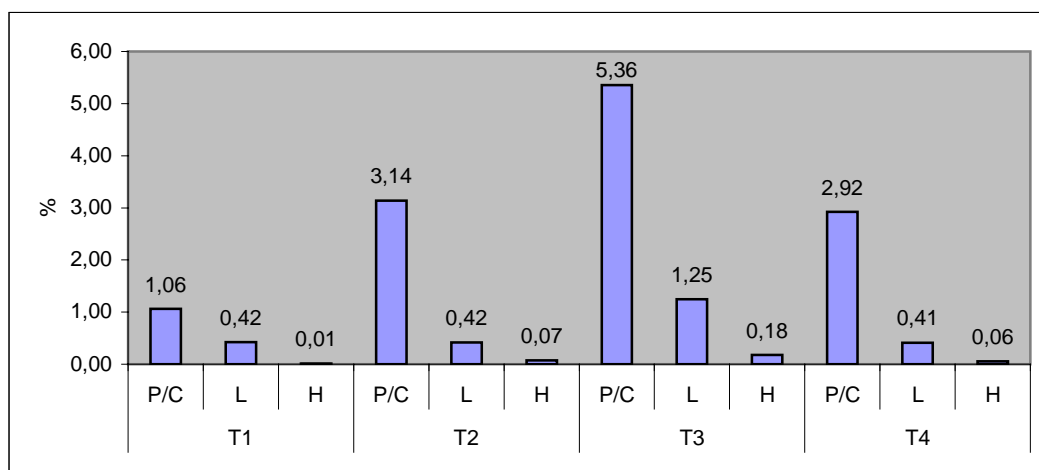


Figura 4: Percentual de diarreia entre tratamentos conforme a consistência das fezes.

P/C = fezes com consistência pastosa e/ou cremosa

L = fezes de consistência líquida

H = fezes hemorrágicas

Foi observada uma predominância de fezes do tipo pastosa ou cremosa dentro dos grupos, seguida de líquidas.

A figura 5 apresenta uma evolução dos índices de diarreia ao longo do período de alojamento.

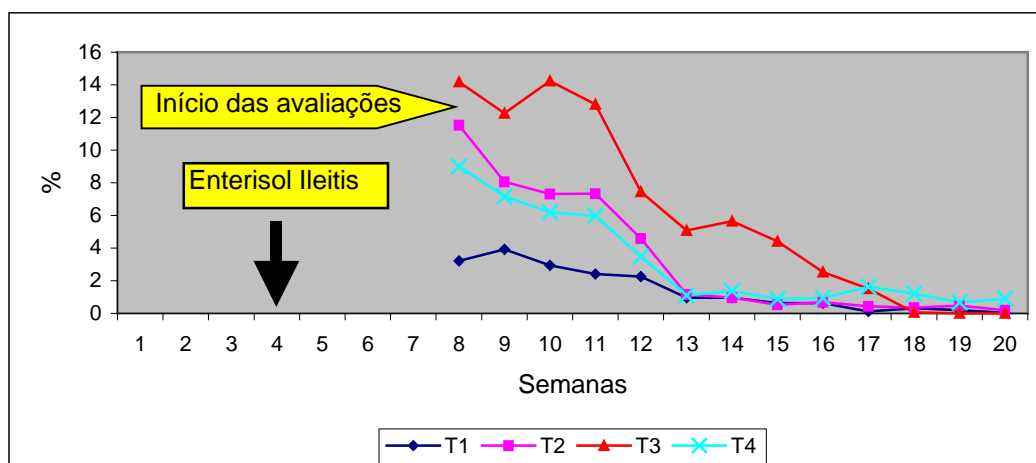


Figura 5: Índice de diarreia entre tratamentos conforme a semana de alojamento.

O alojamento foi efetuado na semana 0, a vacinação entre as semanas 3 e 4 e a diarreia passou a ser registrada a partir da semana 8. Os casos de diarreia continuaram com diferentes intensidades entre os grupos nas semanas 8 a 16, praticamente desaparecendo a partir dessa data.

4.4 Resultados de diagnósticos laboratoriais

Durante o período experimental, ocorreram 17 casos de lotes com necessidade de medicação em função da ocorrência de diarreia. De todos, foram coletadas amostras de fezes para realização de exames laboratoriais. Foram também coletadas fezes para exame de outros três lotes, em que se observou diarreia de forma insuficiente para que fosse decidida a medicação antibiótica.

A técnica confirmatória para *L. intracellularis* foi a PCR e apenas dois entre os materiais de leitões com diarreia mostraram DNA do agente (dois lotes vacinados). Nesses dois casos, pelo teste usado e pelo curto espaço de tempo decorrido entre a vacinação e a coleta do material (quatro e duas semanas), provavelmente tenha se tratado da detecção de DNA da cepa vacinal.

Tabela 9 - Resultados de diagnósticos laboratoriais devido à diarreia clínica.

T	Sem. aloj.	Produtor*	Exames realizados	Resultados			
				BAC	PAR	HIST	PCR
1	2	E Z	BAC, PAR, PCR	Ec	(-)	(-)	(-)
1	3	F R	BAC, PAR, HIST, PCR	Ec	(-)	Circo	(-)
1	5	D L	BAC, PAR, PCR	Sd	Sd	Sd	Sd
2	5	N R	BAC, PAR, PCR	Sd	Sd	Sd	Sd
2	4	N C	BAC, PAR, HIST, PCR	Ec, Sal	(-)	Circo	(-)
2	8	A T	BAC, PAR, PCR	(-)	(-)	(-)	Li
3	2	A S	BAC, PAR, PCR	Ec	(-)	(-)	(-)
3	3	M D	BAC, PAR, PCR	Ec, sal	(-)	(-)	(-)
3	3	Â R	BAC, PAR, PCR	Ec	(-)	(-)	(-)
3	3	H H	BAC, PAR, HIST, PCR	Ec	(-)	Circo	(-)
3	3	I D	BAC, PAR, HIST, PCR	(-)	Coc	Circo	(-)
3	3	T F	BAC, PAR, HIST, PCR	Ec, Sal	(-)	Circo	(-)
3	4	I L	BAC, PAR, PCR	Ec	(-)	(-)	(-)

3	6	N S	BAC, PAR, HIST, PCR	Ec,	(-)	(-)	(-)
4	2	I L	BAC, PAR, PCR	Ec	(-)	(-)	(-)
4	2	N K	BAC, PAR, PCR	Sd	Sd	Sd	Sd
4	3	G M	BAC, PAR, HIST, PCR	Ec	Str, Coc	Circo	(-)
4	3	L M	BAC, PAR, PCR	Ec	(-)	(-)	(-)
4	4	E P	BAC, PAR, PCR	Ec	(-)	(-)	(-)
4	6	D P	BAC, PAR, PCR	Sal	(-)	(-)	Li

T = Tratamento, Sem. aloj. = Semana de alojamento nas terminações em que ocorreu diarreia e que se coletou material para exames laboratoriais, * = Letras iniciais do primeiro e segundo nome dos produtores, BAC = Bacteriológico, PAR = Parasitológico, PCR = Reação em cadeia da polimerase, HIST = Histopatológico, Ec = *Escherichia coli*, Circo = Circovirose, Sd = Sem diagnóstico, Sal = *Salmonella* sp., Li = *Lawsonia intracellularis*, Coc = *Coccídios*, Str = *Strongyloides* sp, (-) = resultado negativo

5 DISCUSSÃO

A intensificação dos métodos de produção aumenta em muito o stress e a pressão de infecção sobre os animais, gerando condições favoráveis à emergência de doenças infecciosas. Essa tendência manifestou-se com clareza na suinocultura, em que a progressão para métodos mais intensivos de criação causou uma mudança significativa nos padrões de apresentação de doenças. Infecções “tradicionais” da suinocultura, como a rinite atrofica, disenteria suína e salmonelose septicêmica praticamente desapareceram de nossos rebanhos, sendo substituídas por outras patologias conhecidas como “tecnopatias”. Essas estão associadas aos novos manejos intensivos de produção, são de curso geralmente crônico e muitas vezes manifestam

seus efeitos de maneira sutil, sem a apresentação de sinais clínicos marcantes. No entanto, costumam afetar fortemente a eficiência da conversão alimentar e o ganho de peso diário, que são algumas das variáveis mais fundamentais para que seja alcançada uma boa produtividade na suinocultura. Entre as tecnopatias, a infecção por *Lawsonia intracellularis* (EPS) merece um destaque especial, por representar doença de difícil prevenção e para a qual as alternativas usadas têm se concentrado principalmente na adição de antimicrobianos na ração. Esse uso intensivo de antibióticos é bastante criticado e combatido em diversas áreas do mundo, principalmente na Comunidade Européia, em que ocorreu uma passagem da teoria para a prática na área de restrição ao uso de medicamentos para fomentar a produção de suínos, através da proibição do uso de antimicrobianos via ração como promotores de crescimento. Essa tendência vem se irradiando a outros países, inclusive ao Brasil, principalmente em função da busca por mercados de exportação, o que gera a demanda em atender as exigências dos compradores, muitas vezes restritivos ao uso de medicamentos antimicrobianos para promover o crescimento de animais.

Há aproximadamente 5 anos foi lançada nos Estados Unidos da América uma nova alternativa para o controle da infecção pela *L. intracellularis*, uma vacina viva atenuada (avirulenta) produzida através de passagens seriadas em cultivos celulares (vacina Enterisol[®] Ileitis, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Knittel *et al.*, 2000). Através do seu uso, tem sido demonstrado sucesso no controle da EPS e redução do uso de antimicrobianos na ração em diversos países (Tabela 3). Até o momento, não foram publicados resultados de avaliações no Brasil. Esse produto está licenciado há algum tempo na América do Norte e na Europa. No Brasil a vacina foi liberada pelo Ministério da Agricultura somente para fins da realização da presente avaliação, não estando liberada até o momento sua comercialização. Pelo grau de eficiência que vem sendo demonstrado nos testes até agora publicados, parece existir espaço e interesse para que venha a ser disponibilizado para utilização em nossos rebanhos. No trabalho atual, objetivamos testar essa vacina, que até o momento é a única já produzida para uso comercial contra a EPS.

Entre os 26 trabalhos encontrados na literatura tratando da avaliação da vacina contra a infecção por *L. intracellularis* (Tabela 3), pode ser observado que em 22 foram obtidas respostas favoráveis à vacinação, medida por parâmetros zootécnicos e sanitários. Em apenas 4 trabalhos, Kolb e Michels (2002); Pelger *et al.* (2004); Kolb e Sick (2004) não foram observadas diferenças significativas entre algumas variáveis

analisadas quando foram comparados tratamentos com e sem o uso da vacina. Para a análise desses dados é importante considerar que todos esses trabalhos foram publicados em anais de congressos ou de conferências, com apresentação das metodologias e resultados numa forma resumida. Nas publicações discutidas acima, os parâmetros usados para avaliar a eficiência da vacinação foram principalmente os zootécnicos (ganho de peso diário, eficiência da conversão alimentar, aumento do consumo de ração, grau de uniformidade dos animais ao abate) e, em menor grau, parâmetros sanitários (como redução de sinais clínicos e de lesões macro e microscópicas em animais doentes, redução da mortalidade, redução do uso de medicamentos e de gastos com medicação).

A amostragem para analisar o ganho de peso diário e conversão alimentar, que são consideradas as principais variáveis de resposta em termos de produção de suínos nas fases de crescimento e terminação, foi revisada por Dritz e Hancock (2002). Os autores indicaram um CV médio entre 5 a 10% para essas variáveis na fase de terminação. Eles relacionam o CV com o número de repetições para assegurar a significação das diferenças entre os tratamentos, quando presentes. Para um CV de 5%, seriam necessárias 17 repetições. No nosso trabalho foram usados quatro tratamentos com 32 repetições em cada grupo experimental (considerando as diferenças no tipo de programa de medicação das rações e uso ou não da vacina), ou dois tratamentos com 64 repetições em cada (considerando apenas uso ou não da vacina).

Ocorreram dificuldades na administração da vacina na forma em que foi fornecida pelo laboratório produtor. O produto deveria ser fornecido a animais recebendo ração sem medicação por no mínimo 3 dias antes e 3 dias após a vacinação. Para atender a essa necessidade, foi preciso produzir uma ração específica, sem a inclusão de antimicrobianos ativos contra a *L. intracellularis* para ser usada durante o período de vacinação. De maneira geral, as fábricas de ração das agroindústrias trabalham próximo ao limite de sua capacidade de produção, assim que a formulação de uma nova ração acarretou transtornos significativos. A programação e o envio dessa ração até os produtores também precisou ser modificado, o que gerou mudanças no padrão logístico de transporte e entrega da ração não medicada. Além disso, o produto foi administrado via água, o que gerou a necessidade de um reservatório específico para o grupo de animais a serem vacinados. Ou seja, se na mesma terminação fossem mantidos lotes de diferentes idades, deveria haver caixas de água separadas ou que os animais fossem vacinados individualmente, o que dificultaria em muito o processo.

Houve também cuidado em certificar sobre a ausência de vazamento de água nos bebedouros e o adequado fluxo nos mesmos, para garantir a ingestão do volume adequado de água e evitar desperdício da vacina.

Outro ponto de dificuldade foi garantir a completa ausência de cloro na água de beber por no mínimo 3 dias antes e 3 dias após a administração da vacina. Muitas vezes os depósitos eram de grande volume, o que induziu ao desperdício de quantidades significativas de água com o descarte da água tratada para permitir o enchimento do depósito com água não clorada antes de dissolver a vacina na mesma. Antes de incluir a vacina na água, foi necessário certificar de que os animais não estavam bebendo água clorada, através de um questionamento informal com os produtores. Pelo baixo grau de treinamento e de escolaridade da maioria dos produtores e funcionários de granjas do Sul do Brasil, esse poderá ser um ponto crítico para o futuro, pois caso haja relaxamento da fiscalização sobre o uso da vacina em água realmente livre de cloro, problemas possivelmente venham a ocorrer. Com relação ao uso da vacina, tivemos dificuldades no manuseio das doses. O produto foi fornecido em frasco de 10 doses e isso gerou a necessidade de abrir um grande número de frascos em cada lote e, em alguns casos, houve corte nos dedos provocado pelo lacre da tampa.

Como um dos indicadores para avaliar o efeito vacinal, havíamos planejado inicialmente a observação clínica individual dos leitões, buscando sinais de diarreia. Isso provou ser inviável, pelo grande número de animais que deveriam ser examinados individualmente e pelas dificuldades de quantificar e mensurar os sinais clínicos nos animais afetados. Uma nova metodologia foi então decidida, que consistia na medida de baias com diarreia e na utilização desse valor na definição de um índice (Item 3.9). Os dados numéricos gerados pelo mesmo e outros eram coletados em planilhas específicas, mantidas na granja, preenchidas diariamente pelo produtor e recebidos para digitação e posterior análise dos dados (Apêndice 2). Após a fase definição do índice, não foram encontrados problemas significativos com a planilha.

Na tabela 6, que apresenta os dados zootécnicos e sua avaliação estatística, pode ser observado que não ocorreu diferença significativa entre as seguintes variáveis respostas: ganho de peso diário, peso da carcaça e CV final. Uma variável (conversão alimentar) apresentou diferença estatisticamente significativa, com vantagem para o grupo vacinado ($P=0,034$). Isso representou uma vantagem numérica (economia) de 25 gramas de ração a cada Kg de ração consumida por leitão para alcançar o mesmo peso de abate. Considerando o número de animais avaliados no experimento (54.030) e o

peso médio das carcaças no abate (90,92 Kg), isso geraria uma economia de 139.344,49 Kg de ração. A análise da relação custo/benefício não foi realizada em função da falta de informação sobre a que custo será comercializada a vacina no Brasil.

A avaliação do coeficiente de variação da carcaça quente apresentou um P de 0,078, o que não assegurou diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%, mas mostrou uma tendência de correlação. Esse índice mede a uniformidade das carcaças no frigorífico e é muito importante no processamento industrial.

Houve uma diferença estatisticamente significativa para melhora no coeficiente de variação de peso da carcaça quente ($P < 0,05$) nos animais que receberam ração de forma descontínua de antimicrobianos em comparação aos que receberam ração com antimicrobianos de forma contínua. Não foi possível concluir sobre a razão para esse resultado. Seria mais lógico que os animais que receberam medicação preventiva entre os pulsos apresentassem maior resistência aos desafios sanitários apresentando, dessa forma, menor variabilidade no ganho de peso e melhor uniformidade da carcaça no abate.

Torna-se difícil comparar os resultados do nosso experimento com outros similares publicados na literatura (Tabela 3). Cada trabalho tende a valorizar com maior ou menor intensidade determinadas variáveis explicativas e as características multifatoriais da infecção tendem a tornar essas comparações imprecisas. A vacinação visa basicamente a impedir as manifestações clínicas ou sub-clínicas da infecção pela *L. intracellularis*. Por isso, para que os efeitos sejam marcadamente diferentes entre os lotes vacinados e não vacinados, seria favorável que no período do experimento tivessem ocorrido manifestações salientes da infecção clínica ou sub-clínica nos lotes em avaliação. Como indicadores dessas possíveis manifestações clínicas, foram adotados dois critérios: índices de diarreia - medicações e a realização de exames laboratoriais para o diagnóstico diferencial dos agentes etiológicos envolvidos nos casos de diarreia. Na Tabela 8, é apresentado o percentual de lotes medicados em função de diarreia entre os diferentes tratamentos. Pode ser observado que entre os 127 lotes avaliados ocorreu necessidade de medicar 17 (6 lotes vacinados e 11 lotes não vacinados). Apesar das diferenças numéricas, possivelmente pelo baixo número de repetições, não foi assegurada diferença estatisticamente significativa. Entre os agentes dessas diarreias, a *L. intracellularis* foi diagnosticada em apenas duas ocasiões, o que sugere uma circulação muito baixa do agente no plantel durante o período em que foi coletado o material. Cabe ressaltar que as coletas para o diagnóstico foram realizadas no

máximo até 8 semanas de alojamento. Se observarmos os dados da tabela 9, podemos observar que os 2 exames positivos ocorreram nas semanas 6 e 8. Como não foram realizadas coletas posteriores à semana 8, poderia ser levantada a hipótese do aumento de amostras positivas caso fossem coletados materiais de animais mais velhos. Na fase da sorologia que foi realizada para determinar o momento da vacinação, entre as 10 granjas amostradas, 4 em que a amostragem foi realizada antes do dia de alojamento 49 e uma no dia 49 mostraram títulos negativos. A partir dessa data, todas as outras 5 granjas amostradas foram positivas. Isso sugeriu uma alta circulação da infecção no plantel, confirmando os dados de Ristow, Silva e Peres (1999), que havia encontrado para granjas de Minas Gerais um índice de 96,33% de granjas positivas.

Uma outra observação foi a de que 82% dos casos de diarreias com intervenção de medicação ocorreram até a 5^a semana após o alojamento (Tabela 9). Se compararmos com os dados de soroconversão apresentados na figura 2, podemos observar que as diarreias foram diagnosticadas antes do provável período em que vinha ocorrendo a infecção dos plantéis da integração. Mais complexa ainda seria a tentativa de avaliar a possibilidade da ocorrência de infecções sub-clínicas (inaparentes, sem diarreia). Segundo McOrist, Gebhart (1999), problemas desse tipo são comuns e podem interferir significativamente com a conversão alimentar. Essa seria uma hipótese válida para explicar a significativa melhoria na conversão alimentar observada nos lotes vacinados, quando comparados aos não vacinados.

Na análise da tabela 9, fica saliente a dificuldade na análise de um experimento que tenta isolar o efeito de uma única infecção bacteriana num sistema epidemiológico com ampla interação entre agentes, fatores predisponentes, desencadeantes e diferentes graus de sensibilidade individual entre os animais. Houve a detecção de 4 agentes bacterianos, 1 helminto, dois protozoários e uma infecção viral entre 20 lotes analisados. O diagnóstico mais comum foi a presença de lesões histopatológicas compatíveis com as da circovirose (em 6 lotes, 35%). Isso não causou surpresa, pois essa tem sido a doença emergente mais comum nos rebanhos do estado de Santa Catarina, inclusive na integração em que foi realizado nosso estudo.

6 CONCLUSÕES

Baseado na conversão sorológica, nas condições da empresa integradora analisada, vacinas contra a infecção por *L. intracellularis* podem ser administradas no início do período de alojamento.

Entre as variáveis analisadas, a vacina mostrou-se significativamente eficiente em melhorar a conversão alimentar. Para a variável coeficiente de variação (uniformidade) dos lotes ao abate, houve uma tendência de melhoria com o uso da vacina.

Os lotes não vacinados e não medicados de forma contínua apresentaram maior índice de diarreia e de prevalência de medicação para diarreia.

Pelas análises utilizando a técnica da PCR de fezes coletadas de animais com diarreia, constatou-se baixa detecção da infecção por *L. intracellularis*.

REFERÊNCIAS

ARMBRUSTER, G.; PELGER, G.; KEFFABER, K.; ARMSTRONG, T.; WEATHERFORD, J.; KESL, L.; SALTZMAN, R.; WINKELMAN, N. Evaluation of Enterisol[®] ileitis vaccine and Tylan[®] premix efficacy against porcine proliferative enteropathy in a challenge model. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 2, p. 579, 2004.

BANE, D.P.; NEUMANN, E.; GEBHART, C.; GARDNER, I.A.; NORBY, B. Porcine proliferative enteropathy: a case-control study in swine herds in the United States. **Journal of Swine Health and Production**. v. 9, p. 155-158, 2001.

BARCELLOS, D.E.S.N. Patogenia das diarreias dos suínos. In: **Integridade Intestinal**, ELANCO Ed., 2004: 58 p.

BARCELLOS, D.E.S.N.; BOROWSKI, S.M. Controle da ileíte, colite e outras formas de diarréia que afetam suínos nas fases de crescimento e terminação. **A Hora Veterinária**. n. 124, p. 57-64, 2001.

BARCELLOS, D.E.S.N.; SOBESTIANSKY, J. Atlas de doenças dos suínos. Goiânia: Art 3, 2003. 207 p.

BORDIN, E.L. Enterite proliferativa: relato de um caso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SUINOCULTURA. 2 Campinas-SP. **Anais**. p. 20, 1985.

COLLINS, A.M.; McORIST, S.; VAN DIJK, M.; LOVE, R.J. The effect of age on clinical disease associated with *Lawsonia intracellularis*. In: CONFERENCE AUSTRALIA PIG SCIENCE. 7 Adelaide, Australia. **Proceedings**. p. 277, 1999.

COLLINS, A.M.; LOVE, R.J.; POZO, J.; SMITH, S.H.; McORIST, S. Studies on the ex vivo survival of *Lawsonia intracellularis*. **Journal Swine Health and Production**. v. 8, n. 5, p. 211-215, (2000a).

COLLINS, A.M.; VAN DIJK, M.; McORIST, S.; LOVE, R.J. Strategic medication and development of immunity to *Lawsonia intracellularis*. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 16 Melbourne, Australia. **Proceedings**. p. 30, (2000b).

COLLINS, A.M.; VAN DIJK, M.; POZO, J.; LOVE, R.J. Immunity to *Lawsonia intracellularis* In: ALLEN D. LEMAN SWINE CONFERENCE. 28 Saint Paul, USA. **Proceedings**. p. 115-120, 2001.

CONNOR, J.; WINKELMAN, N.; GEBHART, C.; DEEN, J.; WOLFF, T. Inclusion of BMD[®] or BMD[®] plus 3-Nitro[®] in swine diets during ileitis vaccination. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS. 35 Des Moines, Iowa, USA. **Proceedings**. p. 131-134, (2004a).

CONNOR, J.; WINKELMAN, N.; GEBHART, C.; DEEN, J.; WOLFF, T. Inclusion of BMD[®] or BMD[®] plus 3-nitro[®] in swine diets during ileitis vaccination. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 275, (2004b).

COOPER, D.M; GEBHART, C.J. Comparative aspects of proliferative enteritis. **Journal American Veterinary Medical Association**. v. 212, n. 9, 1998.

DRITZ, S.; HANCOCK, D.D. Interpreting data. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS 33 Kansas City, Missouri, USA. **Proceedings**. p. 277-233, 2002.

FEDER, J. Experiences using Enterisol ileitis vaccine in commercial swine herd. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 17 Ames, Iowa, USA. **Proceedings**. v. 2, p. 182, 2002.

GALVIN, J.E.; HARRIS, D.L.; WANNEMUEHLER, M.J. Prevention of intestinal spirochaetal disease: immunological and pharmacological mechanisms In: HAMPSON, D.J; STANTON, T.B. **Intestinal spirochaetes in domestic animal and humans**. Wallingford, UK: CAB INTERNATIONAL, 1997 cap. 13, p. 343-374

GEBHART, C.J.; GUEDES, R.M.C. Proliferative enteropathy: diagnostics and immunity. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS. 32 Nashville, Tennessee, USA. **Proceedings**. p. 353-357, 2001.

GUEDES, R.M.C; GEBHART, C.J. Aspectos atuais sobre a detecção da infecção pela *Lawsonia intracellularis* em suínos In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 10 Porto Alegre-RG. **Anais**. v. 1, p. 103-108, 2001.

GUEDES, R.M.C. Epidemiologia e Diagnóstico da Enteropatia Proliferativa Suína. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE SUINOCULTURA. 1 Foz do Iguaçu-PR. **Anais**. p. 60-65, 2002.

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; ARMBRUSTER, G.A.; ROGGOW, B.D. Serologic follow-up of a repopulated swine herd after an outbreak of proliferative hemorrhagic enteropathy. **The Canadian Journal of Veterinary Research**. V. 66, p. 258-263, (2002a).

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; WINKELMAN, N.A.; MACKIE-NUSS, R.; MARSTELLER, T.A. Comparison of different methods for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 66 p. 99-107, (2002b).

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; ZUCKERMANN, F.; ROOF, M. Cell-mediated immune response after *Lawsonia intracellularis* challenge or vaccination. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 17 Ames, Iowa, USA. **Proceedings**. v. 1, p. 220, (2002c).

GUEDES, R.M.C. Enteropatia Proliferativa Suína. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**. n. 42, p. 45-56, 2003.

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J. Onset and duration of fecal shedding, cell-mediated and humoral immune responses in pigs after challenge with a pathogenic isolate or attenuated vaccine strain of *Lawsonia intracellularis*. **Veterinary Microbiology**. n. 91, p. 135-145, 2003.

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J. Progression of *Lawsonia intracellularis* infection and mucosa immune response in pigs. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS. 35 Des Moines, Iowa, USA. **Proceedings**. p. 439-440, 2004.

HARDGE, T.; NICKOLL, E.; GRUNERT, H.; ELBERS, K.; LANGBEIN, U.; KELLER, C.; BLEIER, T.; POHLENZ, J.; OHLINGER, V.F.; SCHROEDER, B. Ileitis (PIA) prevention by oral vaccination – efficacy in European farms. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 2, p. 580, 2004.

HENRY, S.C.; APLEY, M. Therapeutics. In: STRAW, B.E.; MENGELING, W.L.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**. 8 ed. Ames: Iowa State University Press, 1999. cap. 75, p. 1155-1162.

KEÏTA, A.; WESTHOFF, D.; PAGOT, E.; ORVEILLON, F.X.; POMMIER, P. Field study into safety of Enterisol[®] ileitis on a *Lawsonia intracellularis* positive French farm. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 273, 2004.

KELLER, C.; OHLINGER, V. F.; VOETS, H. Stability of lyophilized Enterisol[®] ileitis MLV in drinker water from European farms. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18, 2004, Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 294, 2004.

KESL, L. Tylan[®] Premix and Enterisol[®] ileitis vaccine evaluations in a *Lawsonia intracellularis* challenge model. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS. 35 Des Moines, Iowa, USA. **Proceedings**. p. 139-142, 2004.

KNITTEL, J.; KROLL, J.; MATHES, M.; SICK, F.; ROOF, M.; McORIST, S. Efficacy of an avirulent *Lawsonia intracellularis* in swine. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 16 Melbourne, Australia. **Proceedings**. p.24, 2000.

KOLB, J.; MICHELS, T. Field assessment of a live *Lawsonia* vaccine. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 17 Ames, USA. **Proceedings**. v. 2, p. 153, 2002.

KOLB, J.; SICK, F. Summary of field trials implementing Enterisol[®] ileitis against ileitis. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS 34 Orlando, Florida, USA. **Proceedings**. p. 243-244, 2003.

KOLB, J.; SICK, F. Safety and reduction of infection with a live *Lawsonia* vaccine in a field setting. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 315, 2004.

KOLB, J.; SICK, F.; WALTER, D. Efficacy an avirulent live *Lawsonia intracellularis* vaccine in pigs. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 437, 2004.

KRAEHENBUHL, J.P.; NEUTRA, M.R. Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces. **Physiological Reviews**. 72, p. 853-879, 1992.

KROLL, J.; KNITTEL, J.; SCHWARTZ, K. Heterologous protection against PPE with Enterisol[®] ileitis, ALC in pigs. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 17 Ames, Iowa, USA. **Proceedings**. v. 2, p. 391, 2002.

KROLL, J.; ROOF, M.; ELBERS, K.; UTLEY, P. Efficacy of a lyophilized avirulent live *Lawsonia intracellularis* vaccine in pigs. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 254, (2004a).

KROLL, J.; ROOF, M.; ELBERS, K.; UTLEY, P. Maternal immunity associated with *Lawsonia intracellularis* exposure and vaccination. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 272, (2004b).

KROLL, J.; ROOF, M.; ELBERS, K.; UTLEY, P. The safety and increased effectiveness of vaccinating pigs with Enterisol[®] ileitis in the drinking water. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 272, (2004c).

KROLL, J.; ROOF, M.; ELBERS, K.; WALTER, D.; UTLEY, P. Enterisol[®] ileitis: Induction of Immunity to control ileitis in swine. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 2, p. 832, (2004d).

LAWSON, G.H.K.; ROWLAND, A.C. Intestinal adenomatosis in pigs: a bacteriological study. **Research Veterinary Science**. v. 17, p. 331-336, 1974.

LAWSON, G.H.K. Proliferative enteropathy: a new aetiology. **The Pig Journal**. v. 27, p. 63-68, 1991.

LAWSON, G.H.K.; McORIST, S. The enigma of the proliferative enteropathies: a review. **Journal Comparative Pathology**. v. 108, p. 41-46, 1993.

LAWSON, G.H.K.; McORIST, S.; JASNI, S.; MACKIE, R.A. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: cultivation and maintenance *in vitro*. **Journal Clinical Microbiology**. v. 31, p. 1136-1142, 1993.

LOVE, R.J.; LOVE D.N.; EDWARDS, M.J. Proliferative haemorrhagic enteropathy in pigs. **Veterinary Record**. 100, p. 65-68, 1977.

McORIST, S.; BOID, R.; LAWSON, G.H.K.; McCONNELL, I. Monoclonal antibodies to intracellular *Campylobacter-like* organisms of the porcine proliferative enteropathies. **The Veterinary Record**. v. 121, n. 18, p. 421-422, 1987.

McORIST, S.; JASNI, S.; MACKIE, R.A.; NEEF, N.; MACINTYRE, N.; LAWSON, G.H.K. Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure culture of *Ileal symbiont intracellularis*. **Infectology and Immunology**. v. 61, p. 4286-4292, 1993.

McORIST, S.; GEBHART, C.J.; BOID, R.; BARNS, S.M. Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov., sp nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. **International Journal of Systematic Bacteriology**. v. 45, p. 820-825, (1995a).

McORIST, S.; JASNI, S.; MACKIE, R.A.; BERSCHNEIDER, H.M.; ROWLAND, A.C.; LAWSON, G.H.K. Entry of the bacterium ileal symbiont intracellularis into cultured enterocytes and its subsequent release. **Research in Veterinary Science**. 59, p.255- 260, (1995b).

McORIST, S.; GEBHART, C.J. Porcine Proliferative Enteropathies. In: STRAW, B.E.; MENGELING, W.L.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**. 8 ed. Ames: Iowa State University Press, 1999. cap. 38, p. 521-534.

McORIST, S.; GEBHART, C.J. Pathogenesis of proliferative enteropathy - ileitis. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 17 Ames, Iowa, USA. **Proceedings**. v. 2, p. 186, 2002.

McORIST, S.; BARCELLOS, D.E.S.N.; WILSON, R.J. Global patterns of porcine proliferative enteropathy. **The Pig Journal**. v. 51, p. 26-35, 2003.

McORIST, S.; SMITH, S.H.; COLLINS, A.M. **Ileitis and *Lawsonia intracellularis*: what do we know today?** Disponível em:<<http://www.pighealth.com/ileitis.htm>>. Acesso em: 04 nov. 2004.

McORIST, S.; TORSTEN, H.; OHLINGER, V.; POHLENZ, J.; VOETS, H.; WALTER, D. Porcine Proliferative Enteropathy – Ileitis. **Technical Manual**. 1. ed. Germany: Boehringer Ingelheim, 2004. 56 p.

MEYNS, T.; TIMERMANN, T.; FREBURG, M.; CLUYDTS, G.; THOONEN, H.; MAES, D.; KRUIF, A. Safety of Enterisol® ileitis in pre-breeding gilts in Belgium. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 426, 2004.

MORENO, A.M.; BACARO, M.R.; COUTINHO, L.L.; SAKAMOTO, S.M. Frequência de detecção de *Lawsonia intracellualris* através da técnica de PCR em fezes de suínos no período de dezembro de 1996 a fevereiro de 1999. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 9 Belo Horizonte-MG. **Anais**. p. 205, 1999.

MORES, N.; NEVES, D.S.; NOGUEIRA, R.H.G.; GUIMARÃES, E.B. Diagnóstico clínico e anátomo-histopatológico de casos espontâneos de enterite proliferante e hemorrágica dos suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 37, n. 1, p. 29-37, 1985.

NASCIMENTO, F.E. Ocorrência da Enteropatia Proliferativa Suína no Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 4 Itapema-SC. **Anais**. p. 86, 1989.

PEIXOTO, P.V.; PEIXOTO, C.S.; RAMOS, A.A.; ANDAJUR, M.B. Enteropatia proliferativa hemorrágica em suínos no estado do Rio de Janeiro In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. 21 Salvador-BA. **Anais**. p. 114, 1988.

PELGER, G.; KESL, L.; GEBHART, C.; ARMBRUSTER, G. Enterisol[®] ileitis vaccine characterization study. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 18 Hamburg, Germany. **Proceedings**. v. 1, p. 407, 2004.

PIEROZAN, R. L.; COUTINHO, T.; RAZIA, L.E.; BARCELLOS, D. E. Síndrome hemorrágica intestinal e outras patologias hemorrágicas do sistema digestivo dos suínos. **Suinocultura em Foco**. Porto Alegre-RS. n. 8, p. 3-5, 2003.

POZO, J.; COLLINS, A.M.; RUBIO, P.; LOVE, R.J. Maternal immunity in *Lawsonia intracellularis* infection. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 16 Melbourne, Australia. **Proceedings**. p.108, 2000.

RISTOW, L.E.; SILVA, L.G.C.; PEREZ Jr, A.A. Levantamento sorológico da enteropatia proliferativa dos suínos no Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 9 Belo Horizonte-MG. **Anais**. p. 43, 1999.

ROITT, I.; BRASTOFF, J.; MALE, D. **Immunology**. 5. ed. London: Mosby, 1998. 423 p.

ROOF, M.B. Vaccinating for ileitis In: ALLEN D. LEMAN SWINE CONFERENCE. 28 Saint Paul, USA. **Proceedings**. p.121-126, 2001.

ROTH, J.A. The Immune System. In: STRAW, B.E.; MENGELING, W.L.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**. 8 ed. Ames: Iowa State University Press, 1999. cap. 56, p. 799-820.

ROWLAND, A.C.; LAWSON, G.H.K.; MAXWELL, A. Intestinal adenomatosis in pig: occurrence of a bacterium in affected cells. **Nature**. v. 243, p. 417, 1973.

ROWLAND, A.C.; LAWSON, G.H.K. Intestinal adenomatosis in pigs: Immunofluorescent and electron microscopic studies. **Research Veterinary Science**. v. 17, p. 323-330, 1974.

SANTOS, J.L.S.; RISTOW, L.E.; VILOMA, M.I.V.; DALE, R.; RIBEIRO, M.F.; FARIA, J.E. Adenomatose suína: isolamento de *Compylobacter sputorum* subespécie *mucosalis* e ocorrência na Zona da Mata Minas Gerais In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. 21 Salvador-BA. **Anais**. p. 222, 1988.

SAS Institute Inc. 1998. **SAS user's guide: statistics**. Caray, North Carolina.

SICK, F.; HAYES, P.; KOLB, J. Enterisol[®] ileitis vaccine; field efficacy evaluation. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS 33 Kansas City, Missouri, USA. **Proceedings**. p. 161-163, (2002a).

SICK, F.L.; HAYES, P.W.; KOLB, J. Enterisol[®] ileitis vaccine field efficacy evaluation. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 17 Ames, Iowa, USA. **Proceedings**. v. 2, p. 124, (2002b).

SEADI, C. **Princípios de imunologia**. Canoas: Editora da ULBRA, 1998, 248 p.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.; MORES, N.; CARVALHO, L.F.; OLIVEIRA, S. **Clínica e Patologia Suína**. 2. ed. Goiânia: Art 3, 1999. 464 p.

SONCINI, R.A. Achado de lesões de Enteropatia proliferativa Suína (EPS). In: SIMPÓSIO DO CNPSA E SIMPÓSIO CATARINENSE DE SANIDADE SUÍNA. 3 e 2 Concórdia-SC. **Anais**. p. 319-321, 1983.

TOMA, B.; DUFOUR, B.; SANOVA, M.; BENETT, J.J.; MONTOU, F.; LOUZÃ, A.; ELLIS, P. **Applied veterinary epidemiology and the control of disease in populations**. Maisons-Alfort, France: Aeema, 1999. 536 p.

WADDELL, J.; SHERLOCK, P.; WALTER, D.; KROLL, J. Immunization against *Lawsonia intracellularis* in a new genetic multiplier system. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 17 Ames, Iowa, USA. **Proceedings**. v. 1, p. 221, 2002.

WADDELL, J.; SHERLOCK, P.; WALTER, D.; KROLL, J. Ileitis vaccination controls ileitis in the complete absence of oral antibiotics in a start-up breeding farm. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS. 34 Orlando, Florida, USA. **Proceedings**. p. 245-246, 2003.

WALTER, D.; KROLL, J.; HOLCK, T.; OKKINGA, K. Observations of dose dependency with Enterisol[®] ileitis vaccine. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS. 35 Des Moines, Iowa, USA. **Proceedings**. p. 139-142, 2004.

WINKELMAN, N.L.; DEE, S.D. Ileitis: an update. **Compendium Continuing Education**. v. 19, p. 519-525, 1996.

WINKELMAN, N.L.; PAULING, G.E.; BOG, R.N.; DICK, P.C.; PARADIS, M.A.; BRENNAN, J. Use of a challenge model to measure the impact of subclinical porcine proliferative enteritis on growth performance in pigs. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE PRACTITIONERS. 29 Des Moines-IA. **Proceedings**. p. 209-211, 1998.

WINKELMANN, N. L. Measurement of the correlation between lesion length and reduction in average daily gain using a *Lawsonia intracellularis* challenge model. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE VETERINARIANS. 30 Saint, Louis, Missouri, USA. **Proceedings**. p. 241-242, 1999.

WONDERLICH, A.L.; MICHELS, T. Field efficacy Enterisol[®] ileitis in gilts and sows. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. 17 Ames, Iowa, USA. **Proceedings**. v. 2, p. 150, 2002.

APÊNDICE 1 – Classificação da consistência das fezes.

Normais (> 24% de matéria seca)



Pastosas (22-24% de matéria seca)



Cremosas (20-22% de matéria seca)



Monitoramento de fezes na parceria (teste).

Data da vacinação (dia/mês):

Produtor: Nº Baías: Tratamento: Extensionista:

Aloj. (dia/mês) Início avaliação (dia/mês) Abate (dia/mês) Dias aloj. (nº) 0 Dias aval. (nº) 0

AGOSTO					
Dia	Tipo de diarreia				
	Cremosa ou pastosa	Líquida	Sangue	Total (nº)	Percentual
1				0	#DIV/0!
2				0	#DIV/0!
3				0	#DIV/0!
4				0	#DIV/0!
5				0	#DIV/0!
6				0	#DIV/0!
7				0	#DIV/0!
8				0	#DIV/0!
9				0	#DIV/0!
10				0	#DIV/0!
11				0	#DIV/0!
12				0	#DIV/0!
13				0	#DIV/0!
14				0	#DIV/0!
15				0	#DIV/0!
16				0	#DIV/0!
17				0	#DIV/0!
18				0	#DIV/0!
19				0	#DIV/0!
20				0	#DIV/0!
21				0	#DIV/0!
22				0	#DIV/0!
23				0	#DIV/0!
24				0	#DIV/0!
25				0	#DIV/0!
26				0	#DIV/0!
27				0	#DIV/0!
28				0	#DIV/0!
29				0	#DIV/0!
30				0	#DIV/0!
31				0	#DIV/0!
ST	0	0	0	0	
TO	0	0	0	0	

SETEMBRO					
Dia	Tipo de diarreia				
	Cremosa ou pastosa	Líquida	Sangue	Total (nº)	Percentual
1				0	#DIV/0!
2				0	#DIV/0!
3				0	#DIV/0!
4				0	#DIV/0!
5				0	#DIV/0!
6				0	#DIV/0!
7				0	#DIV/0!
8				0	#DIV/0!
9				0	#DIV/0!
10				0	#DIV/0!
11				0	#DIV/0!
12				0	#DIV/0!
13				0	#DIV/0!
14				0	#DIV/0!
15				0	#DIV/0!
16				0	#DIV/0!
17				0	#DIV/0!
18				0	#DIV/0!
19				0	#DIV/0!
20				0	#DIV/0!
21				0	#DIV/0!
22				0	#DIV/0!
23				0	#DIV/0!
24				0	#DIV/0!
25				0	#DIV/0!
26				0	#DIV/0!
27				0	#DIV/0!
28				0	#DIV/0!
29				0	#DIV/0!
30				0	#DIV/0!
ST	0	0	0	0	
%	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!		

OUTUBRO					
Dia	Tipo de diarreia				
	Cremosa ou pastosa	Líquida	Sangue	Total (nº)	Percentual
1				0	#DIV/0!
2				0	#DIV/0!
3				0	#DIV/0!
4				0	#DIV/0!
5				0	#DIV/0!
6				0	#DIV/0!
7				0	#DIV/0!
8				0	#DIV/0!
9				0	#DIV/0!
10				0	#DIV/0!
11				0	#DIV/0!
12				0	#DIV/0!
13				0	#DIV/0!
14				0	#DIV/0!
15				0	#DIV/0!
16				0	#DIV/0!
17				0	#DIV/0!
18				0	#DIV/0!
19				0	#DIV/0!
20				0	#DIV/0!
21				0	#DIV/0!
22				0	#DIV/0!
23				0	#DIV/0!
24				0	#DIV/0!
25				0	#DIV/0!
26				0	#DIV/0!
27				0	#DIV/0!
28				0	#DIV/0!
29				0	#DIV/0!
30				0	#DIV/0!
31				0	#DIV/0!
ST	0	0	0	0	
Índice diarreia	#####	#####	#####		#DIV/0!

NOVEMBRO					
Dia	Tipo de diarreia				
	Cremosa ou pastosa	Líquida	Sangue	Total (nº)	Percentual
1				0	#DIV/0!
2				0	#DIV/0!
3				0	#DIV/0!
4				0	#DIV/0!
5				0	#DIV/0!
6				0	#DIV/0!
7				0	#DIV/0!
8				0	#DIV/0!
9				0	#DIV/0!
10				0	#DIV/0!
11				0	#DIV/0!
12				0	#DIV/0!
13				0	#DIV/0!
14				0	#DIV/0!
15				0	#DIV/0!
16				0	#DIV/0!
17				0	#DIV/0!
18				0	#DIV/0!
19				0	#DIV/0!
20				0	#DIV/0!
21				0	#DIV/0!
22				0	#DIV/0!
23				0	#DIV/0!
24				0	#DIV/0!
25				0	#DIV/0!
26				0	#DIV/0!
27				0	#DIV/0!
28				0	#DIV/0!
29				0	#DIV/0!
30				0	#DIV/0!
ST	0	0	0	0	