

# ILEITIS U SVINJA - EPIZOOTIOLOŠKO I KLINIČKO ZNAČENJE

## Ileitis in pigs - epizootiological and clinical significance



Krolo, J., V. Starešina, Z. Milas, Lj. Barbić, Z. Štritof Majetić, J. Habuš, V. Mojčec Perko, V. Stevanović, M. Perharić, N. Turk

### Sažetak

**P**roliferativne enteropatije (PE) poznate pod nazivom ileitis u svinja skupina su akutnih i kroničnih infekcija koje se očituju različitim kliničkim znakovima, ali sa zajedničkim temeljnim patološkim promjenama vidljivim na razudbi kao zadebljanje sluznice tankoga i debeloga crijeva. Histološki, zahvaćena tkiva pokazuju naglašenu proliferaciju nezrelih epitelnih stanica crijevnih kripti formirajući tako hiperplastičnu sluznicu, nalik adenomu. Uzročnik je obligatna unutarstanična gram-bakterija *Lawsonia intracellularis*. Klinički se očituje u četirima oblicima: akutna hemoragijska PE (PHE), kronična PE (tzv. crijevna adenomatoza svinja - PIA), regionalni ileitis i nekrotični enteritis. Obolijeva prasad nakon odbića i tovljenici u dobi od 6 do 20 tjedana. Osim u domaćih svinja bolest je zabilježena i u drugih životinjskih vrsta. Ileitis u svinja ima veliko gospodarsko značenje jer uzrokuje znatne financijske gubitke u suvremenom svinjogojstvu.

**Ključne riječi:** svinje, ileitis, proliferativna enteropatija, PIA, PHE, *Lawsonia intracellularis*

### Abstract

Ileitis in pigs or proliferative enteropathy (PE) is a group of acute and chronic infections in pigs manifested by diarrhea, growth depression and acute mortality due to the proliferation of immature enterocytes and consequent thickening of the mucosa of the distal part of small intestine and proximal part of colon. The causative agent of PE is obligately intracellular Gram - bacterium *Lawsonia intracellularis*. Clinically, it is manifested in four forms: acute hemorrhagic PE (PHE), chronic PE (porcine intestinal adenomatosis- PIA), regional ileitis and necrotic enteritis. Generally, it occurs in postweaning piglets and in fattening pigs between 6 and 20 weeks of age. Except in pigs, disease may occur in a wide range of host species. Ileitis in pigs has a great economic importance because it causes substantial financial losses in modern pig production.

**Key words:** pigs, ileitis, proliferative enteropathy, PIA, PHE, *Lawsonia intracellularis*

### Uvod

Proliferativne enteropatije (PE) poznate pod nazivom ileitis skupina su akutnih i kroničnih infekcija koje se očituju različitim kliničkim znakovima, ali sa zajedničkim temeljnim patološkim promjenama vidljivim na razudbi kao zadebljanje sluznice tankoga i debeloga crijeva. Histološki, zahvaćena tkiva pokazuju naglašenu proliferaciju nezrelih epitelnih stanica crijevnih kripti formirajući tako hiperplastičnu sluznicu, nalik adenomu. Takve proliferirane stanice redovito sadrže brojne intracitoplazmatske bakterije *Lawsonia intracellularis* (McOrist i Gebhart, 2006.).

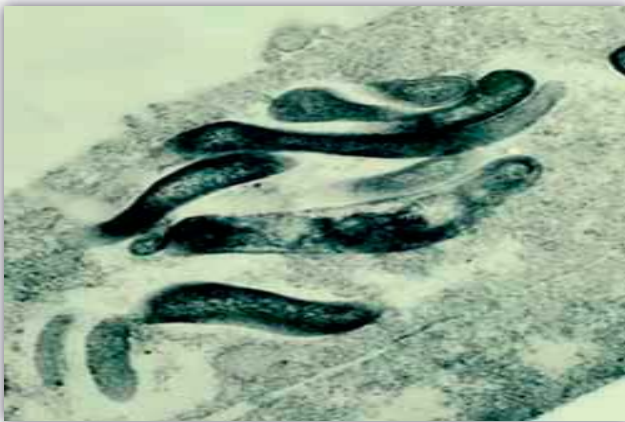
Od kroničnoga ileitisa, poznatoga pod nazivom

crijevna adenomatoza svinja (engl. PIA - porcine intestinal adenomatosis), najčešće obolijeva prasad nakon odbića, dok od akutne hemoragijske PE (engl. PHE - proliferative hemorrhagic enteropathy) obolijevaju svinje u dobi od 6 do 20 tjedana. PE u svinja svjetski je rasprostranjena bolest i pojavljuje se u svim regijama u kojima se uzgajaju svinje (McOrist i sur., 2003.b). U enzootskim područjima otprilike 15 - 30% uzgoja zahvaćeno je infekcijom s učestalošću 5 - 20% svinja u uzgoju (Cooper i sur., 1998.). Gospodarski gubitci posljedica su slabijega prirasta (produženo vrijeme uzgoja do tržišne težine), povećane smrtnosti (do 6%) i izlučivanja iz tova ili rasploda (do 15%) (Naglić i sur., 2005.).

Jelena KROLO, dr. med. vet.; Vilim STAREŠINA, dr. med. vet., izvanredni profesor, Zoran MILAS, dr. med. vet., redoviti profesor, Ljubo BARBIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, Zrinka ŠTRITOF MAJETIĆ, dr. med. vet., docent, Josipa HABUŠ, dr. med. vet., asistentica, Vesna MOJČEC PERKO, dipl. ing. mol. biol., Vladimir STEVANOVIĆ, dr. med. vet., asistent, Matko PERHARIĆ, dr. med. vet., asistent, Nenad TURK, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Zagreb.

## Etiologija

Uzročnik ileitisa u svinja obligatna je intracelularna, gram-negativna, mikroaerofilna bakterija *Lawsonia intracellularis*. Pripada rodu *Desulfovibrionales*, razredu *Deltaproteobacteria*, porodici *Desulfovibrionaceae*, rodu *Lawsonia*. Oblika je savijena štapića zadebljanih krajeva, dugih 1,25 – 1,75  $\mu\text{m}$ , širokih 0,25 – 0,43  $\mu\text{m}$  (Slika 1.). Vrlo se teško uzgaja. U laboratorijskim uvjetima može se uzgojiti samo na kulturi svinjskih (IPEC-J2) i štakorskih (IEC-18) enterocita, i to u posebnim uvjetima: 82,2% dušika, 8,8%  $\text{CO}_2$  i 8% kisika pri temperaturi 37° C (Stills, 1991.; Lawson i sur., 1993.) uz dodatak pročišćene *L. intracellularis* (iz crijeva prirodno inficiranih svinja kojima je histološki potvrđena dijagnoza PE) i antibiotika (neomicin ili gentamicin 50  $\mu\text{g/L}$  i vankomicin 100  $\mu\text{g/ml}$ ). Od šest testiranih dezinficijensa samo kvarterni amonijevi spojevi (3% cetrimide QA) i temeljni jod (1% povidon-jod) pokazuju punu baktericidnu aktivnost (Collins i sur., 2000.).



Slika 1. *Lawsonia intracellularis* snimljena elektronskim mikroskopom

(izvor: [http://www.3tres3.com/3tres3\\_common/art/3tres3/4074/0703-1-1\\_9227.jpg](http://www.3tres3.com/3tres3_common/art/3tres3/4074/0703-1-1_9227.jpg))

Posljedica je izlaganja svinja sirovim, djelomično filtriranim, homogeniziranim inficiranim sluznicama kliničko očitovanje bolesti, nastanak specifičnih oštećenja sluznice crijeva (Roberts i sur., 1977.; Maphoter i sur., 1987.; McOrist i Lawson, 1989.) te nalaz unutarstanične bakterije u apikalnom dijelu citoplazme zahvaćenih enterocita (McOrist i sur., 1993.; Guedes i Gebhart, 2003.a, 2003.b).

## Epizootiologija

Infekcijska je doza relativno niska; najniža je doza koja u primljivih svinja može izazvati infekciju  $5-4 \times 10^4$  (McOrist i sur., 1993.; Guedes i sur., 2003.a).

Uzročnik se iz organizma izlučuje fecesom. Izvan domaćina u fecesu može preživjeti 7 – 14 dana pri

temperaturi 5 – 15° C (Collins i sur., 2000.). Okoliš mnogih svinjskih farmi vrlo je vjerojatno sekundarni izvor infekcije za svinje. S obzirom na sposobnost preživljavanja uzročnika u vanjskoj sredini možemo pretpostaviti da se bolest može prenositi kontaminiranim priborom, obućom radnika, a širenju zaraze mogu pridonijeti kukci, ptice i glodavci. Naizgled zdrave životinje mogu biti odgovorne za uvođenje ileitisa u "zdrava" stada, nakon čega se pojavljuju eksplozivne epizootije (McOrist i Gebhart, 2006.). Osim domaćih svinja prirodnim putem mogu se inficirati ždrebad (Frank i sur., 1998.), divlje svinje (*Sus scrofa*) (Tomanova i sur., 2002.), jeleni (Drolet i sur., 1996.), majmuni (Klein i sur., 1999.; Cooper i Gebhart 1998.), ptice trkačice (Cooper i sur., 1997.a, 1997.b; Lemarchand i sur., 1997.), laboratorijski hrčci (Frisk i Wagner 1977.; Williams i sur., 1996; Lavoie i sur., 2000.) i laboratorijski kunić (Schoeb i Fox 1990.; Duhamel i sur., 1998.). Unatoč očitosti mogućnosti infekcije dosad nije zabilježen ni jedan slučaj ileitisa u čovjeka.

## Patogeneza

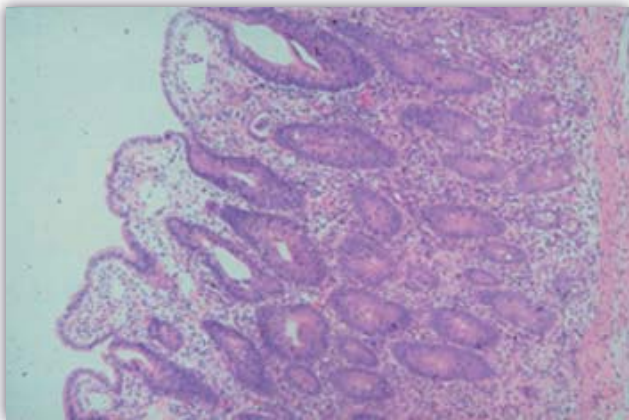
Studije su pokazale da vrhunac infekcije i patološka oštećenja sluznice nastaju 3 tjedna nakon inokulacije. U većine svinja crijevna infekcija, proliferativne promjene i izlučivanje uzročnika traju otprilike 4 tjedna, dok u nekih mogu potrajati i do 10 tjedana (Smith i McOrist, 1997.; Guedes i sur., 2002.a). U 50 – 100% pretraženih životinja u trećem tjednu nakon inokulacije pojavljuju se umjereni proljev i histološki vidljive lezije. Oštećenja sluznice debeloga crijeva pojavljuju se 1 – 2 tjedna nakon infekcije tankoga crijeva (Guedes i Gebhart, 2003.b).

U nekim slučajevima PE, *L. intracellularis* može se pronaći i u tonzilama i mezenterijalnim limfnim čvorovima (Roberts i sur., 1980.; Jensen i sur., 2000.), ali čini se da su spomenuta mjesta samo sekundarno inficirana.

*In vivo* i *in vitro* studije rasvijetlile su neke od ranih faza infekcije s *L. intracellularis* (McOrist i sur., 1989.b, 1995.b; Lawson i sur. 1995.). Bakterije se povežu sa staničnom membranom napadnute stanice te ulaze u enterocite preko ulazne vakuole. Specifična sposobnost prianjanja te posebni receptori nisu zamijećeni, ali postoji mogućnost da *L. intracellularis* posjeduje T3SS (*type III secretion system*), svojstven nekim patogenim gram-negativnim bakterijama. Ulazna vakuola brzo puca (unutar 3 sata), bakterije se slobodno množe u citoplazmi (više nisu vezane za membranu). Mehanizam kojim bakterija uzrokuje prestanak sazrijevanja inficiranih stanica, koje i dalje prolaze kroz mitotičku diobu i formiraju hiperplastične kriptne, nije posve razjašnjen (McOrist i Gebhart, 2006.).

Crijevne kriptne inficirane s *L. intracellularis* mogu postati iznimno izdužene i razgranate (Slika 2.). Gubi-

tak proteina i aminokiselina u lumenu crijeva te smanjena resorpcija hranjivih sastojaka zbog nedostatka zrelih enterocita mogući su uzrok smanjenja tjelesne težine i učinkovite konverzije hrane (Rowan i Lawrence, 1982.; Gogolewski i sur., 1991.).



Slika 2. Histološki preparat crijevne adenomatoze u svinja (PIA). Izražena proliferacija nezrelih stanica crijevne kripte.

(izvor: <http://www.thepigsite.com/publications/2/ileitis/90/521-histopathological-and-immunohistopathological-ihc-examination>)

Crijevni ispirak sadrži visoku razinu *Lawsonia* specifičnih IgA (Guedes i sur., 2002.c). U krvi oboljelih svinja dolazi i do staničnoga i humoralnoga imunskog odgovora (McOrist i Lawson, 1993.; Knittel i sur., 1998.; Guedes i Gebhart, 2003.b). Prva pojava staničnoga imunskog odgovora može se detektirati u krvi zaraženih svinja 2 tjedna nakon infekcije (Guedes i sur., 2002.c). Degenerativne i reparativne promjene na proliferiranim enterocitima mogu se preklapati s lokalnim sekundarnim bakterijskim infekcijama, npr. s *Fusobacterium necrophorum*, *Actinomyces* spp., *Bacterioides* spp. i dr.

### Klinička slika

Klinička slika bolesnih životinja varira od blagih kliničkih znakova do teških stanja praćenih potpunom tuposti i apatijom životinja. Unatoč normalnom unosu hrane svinje gube na tjelesnoj težini (Slika 3.). U pojedinim slučajevima može doći do anoreksije. Takve životinje pokazuju znatni želju za hranom, ali odbijaju jesti. Proljev je (kada je prisutan) vodnjikav i sivozelenkaste boje.

Akutnu hemoragijsku PE prati pojava akutne hemoragijske anemije. Crni feces boje katrana često je prvi vidljivi klinički simptom, no neke životinje mogu uginuti i bez prethodne promjene u kvaliteti i boji fecesa pokazujući samo znatno bljedilo sluznica. Gravidne životinje mogu pobaciti u roku od 6 dana od početka pojave kliničkih simptoma (McOrist i sur., 1999.).

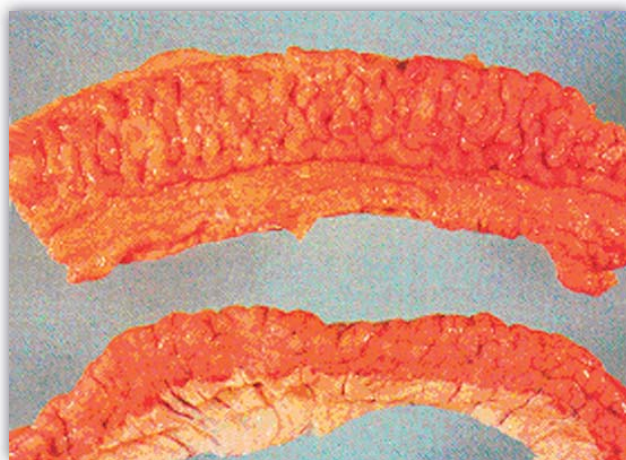


Slika 3. Smanjeni prirast pojedinih svinja (izvor: <http://www.aasv.org/shap/issues/v12n3/v12n3p134.html>)

### Klinički oblici ileitisa

#### 1. Kronične proliferativne enteropatije

Kod kronične PE do patoloških promjena najčešće dolazi 50 cm od terminalnoga dijela tankoga crijeva i u gornjoj trećini proksimalnoga dijela debeloga crijeva. U težim slučajevima mogu se proširiti na jejunum, slijepo crijevo i niže dijelove debeloga crijeva.



Slika 4. Kronična PE; zadebljala, edematozna sluznica (izvor: <http://www.thepigsite.com/publications/2/ileitis/66/421-chronic-ileitis>)

Pojavljuje se subserozni i mezenterijalni edem. Valoviti je uzorak površine sluznice naglašen, vlažan, ali ne i sluzav. Katkad je prisutan upalni eksudat. Zahvaćena sluznica proteže se duboko u naborima, a uzdužna ili poprečna oštećenja sluznice debeloga crijeva mogu uzrokovati stvaranje prividnoga plaka ili formiranje polipa (Slika 4.) (McOrist i Gebhart, 2006.).

Histološki, sluznica se sastoji od proširene, razgrnate kripte obložene nezrelim epitelnim stanicama. U usporedbi s normalnim kriptama koje su sastavljene od jednoga sloja stanica, inficirane kripte imaju od 5 do 10 slojeva stanica više. Vidljive su mnogobrojne mitotičke figure kroz razvoj kripte.

## 2. Nekrotični enteritis

Nekrotični enteritis očituje se koagulacijskom nekrozom s ograničenim upalnim iscjetkom koji se preklapa s postojećim patološkim oštećenjima sluznice. Žuto-sivkasta sirasta masa čvrsto pranja uza sluznicu jejunuma i ileuma (Slika 5.). Histološki, koagulacijska nekroza jasno je definirana uz prisutnost naslaga fibrina i degeneriranih upalnih stanica. Dijagnoza se potvrđuje prema nazočnosti ostataka proliferiranoga epitela u dubljim slojevima (McOrist i Gebhart, 2006.).



Slika 5. Nekrotični enteritis

(izvor: <http://www.thepigsite.com/publications/2/ileitis/66/421-chronic-ileitis>)

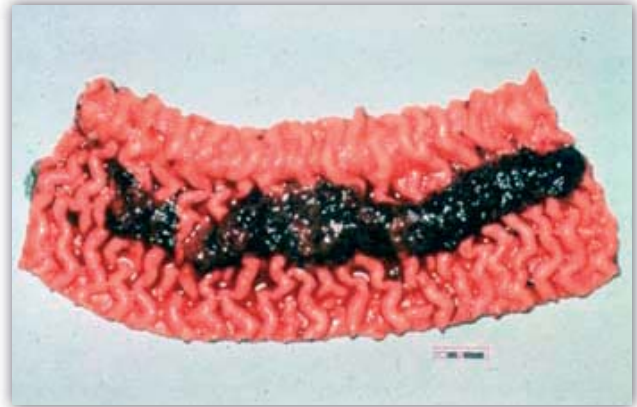
## 3. Regionalni ileitis

Kontrahirani, rigidni završetak tankoga crijeva, tradicionalno nazvan "hose-pipe gut", tipičan je za taj oblik ileitisa. Sluznica može sadržavati ulceracije s granulacijskim tkivom. Najuočljivija je značajka tog oblika ileitisa hipertrofija vanjskih slojeva mišićnice. Takve patološke promjene regionalnoga ileitisa pojavljuju se rijetko (McOrist i Gebhart, 2006.).

## 4. Akutna hemoragijska proliferativna enteropatija

Hemoragijska PE uglavnom zahvaća ileum i kolon. Zahvaćeno crijevo obloženo je i otečeno zbog pojave edema. U lumenu ileuma i kolona često nalazimo jedan ili više krvnih ugrušaka. Rektum može sadržavati crni

katranasti feces nastao miješanjem krvi i probavljene hrane (Slika 6.). Površina zahvaćenoga dijela sluznice crijeva sadrži najčešće plitka oštećenja, a čirevi ili erozije nisu opaženi. Na histološkom preparatu uočava se opsežna degeneracija, kongestija i krvarenje unutar proliferiranoga epitela. Na tim mjestima dolazi do gomilanja krvavoga staničnog detritusa koji u velikom broju sadrži *L. intracellularis* iznad zahvaćene sluznice te u lumenu zahvaćenih crijevnih kripti (McOrist i Gebhart, 2006.).



Slika 6. Akutna proliferativna enteropatija

(izvor: <http://quizlet.com/10224131/systemic-pathology-undifferentiated-diarrhea-of-neonatal-animals-flash-cards/>)

## Dijagnostika

Na temelju kliničke slike može se postaviti samo sumnja na bolest. Nakon uginuća patoanatomskom pretragom nalazimo oštećenja sluznice crijeva koja upućuju na ileitis, ali ona nisu patognomonična (Jordan i sur., 1999.). Sluznica crijeva dilatirana je i otečena, poprečni su nabori hipertrofični. Mogu biti prisutna i krvarenja. Osim makroskopski, uzročnika možemo dokazati i histološkom pretragom reza sluznice crijeva koristeći se modificiranim Ziehl-Neelsenovim postupkom bojenja preparata. Zahvaćeno tkivo daje prepoznatljivu morfologiju proliferirane sluznice. U apikalnom dijelu citoplazme enterocita mogu se vidjeti male, štapičaste, zakrivljene unutarstanične bakterije (Jordan i sur., 1999.).

U dijagnostici ileitisa rutinski se rabi i Warthin-Starryjeva metoda impregnacije solima srebra koja će jasno prikazati prisutnost intracelularne bakterije (Young, 1969.).

Iako postoji način da se uzgoji kultura stanica u laboratoriju, zbog kompleksnoga postupka češće se rabe alternativne metode.

Specifična identifikacija uzročnika iz patološki promijenjenih crijeva dobiva se imunohistokemijskim (IHC) bojenjem osnovnoga tkiva (Lawson i sur., 1985.; McOrist i sur., 1987.; Guedes i sur., 2002.c) koje je superiorno Warthin-Starryjevoj metodi zbog moguć-

nosti detekcije monoklonskih ili poliklonskih protutijela specifičnih za *L. intracellularis*.

Od seroloških metoda primjenjuju se neizravna imunofluorescencija (IFA) i imunoperoksidaza test (IIP) u kojima je ugrađen cijeli bakterijski antigen, ekstrahiran iz prirodno inficiranih crijeva ili iz uzgojene kulture te unutarstanične bakterije. U SAD-u se za detekciju protutijela rabi i Blocking ELISA.

Analiza fecesa spomenutim metodama nije dovoljno osjetljiva da bi mogla ustanoviti prisutnost uzročnika kod svake infekcije. Metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) možemo detektirati  $10^2$ – $10^5$  uzročnika u 1 g fecesa. DNK možemo ekstrahirati iz uzorkovanoga materijala s pomoću reagensa u dostupnim komercijalnim kitovima (Jones i sur., 1993.). PCR omogućava brzu detekciju uzročnika na velikom broju istraživanih uzoraka. Primjena te metode za života, iz uzorka fecesa, postala je učinkovito sredstvo u prevenciji i kontroli bolesti.

## Liječenje

U sprječavanju i liječenju PE svinja najučinkovitijima su se pokazali makrolidi, linkozamidi i pleuromutilini (McOrist i sur., 1996.b, 1997.; Walter i sur., 2001.; Schwartz i sur., 1999.; Winkleman i sur., 2002.). Penicilin, bacitracin, aminoglikozidi poput neomicina i virginiamicina pokazali su se neuspješnima u suzbijanju ileitisa (McOrist i Gebhart, 2006.). Liječenje akutne PE u uzgoju zahtijeva ozbiljan pristup jer uključuje bolesne životinje i liječenje životinja koje su bile ili jesu u kontaktu sa zaraženima (životinje sumnjive na bolest i životinje sumnjive na zaraženje). Najučinkovitiji su antibiotici tiamulin (120 ppm) i tilozin (100 ppm), koji se daju peroralno, otopljeni u vodi ili u hrani tijekom 14 dana ili, ako je riječ o manjim uzgojima, intramuskularno u odgovarajućoj dozi (McOrist i Gebhart, 2006.). Ako se u uzgoju pojavi određen broj oboljelih svinja, nužno je odvojiti bolesne životinje u posebne prostorije. Na taj se način mogu ograničiti gubitci. Do sada se najučinkovitijom na terenu pokazala primjena antibiotika otopljenoga u vodi za piće. Budući da je teško odrediti pravo vrijeme za primjenu antibiotika, često se dodaju prekasno da bi mogli zaustaviti štetno djelovanje mikroorganizma ili, s druge strane, ako su dodani prerano, svinje ne dobiju priliku razviti aktivnu imunost, pa postaju podobne za razvoj težih oblika PE. Iako je oporavak od ileitisa moguć, pravi je problem u suvremenom svinjogojstvu znatno produljenje vremena uzgoja svinja do tržišne težine s posljedičnim povećanjem troškova.

## Profilaksa

Pravilnim držanjem životinja, odnosno pridržavanjem "all-in, all-out" serijske proizvodnje, bez miješanja svinja na farmi i bez uvođenja novih svinja u postojeću

proizvodnu seriju, redovitim čišćenjem i temeljitom dezinfekcijem, uporabom posebnih, odvojenih boksova za oboljele svinje te uporabom posebne obuće i alata u pojedinim jedinicama farme trebala bi se smanjiti mogućnost širenja uzročnika na farmi.

Oralna primjena živoga atenuiranog cjepiva u niskom titru ( $10^{4.9}$  TCID<sub>50</sub>) mladim svinjama osigurava značajnu razinu imunosti (Kroll i sur., 2004.). Primjenom cjepiva u vodi za piće povećava se tjelesna težina i smanjuje izlučivanje uzročnika fecesom, ali ne i prestanak njegova izlučivanja. Prevencija kolonizacije *L. intracellularis* postiže se kontinuiranim liječenjem svinja visokim razinama antibiotika, ali takva praksa nosi rizik od mogućega nastanka rezistencije, a time se dodatno otežava sprječavanje širenja bolesti i liječenje.

Katkad se i unatoč takvom programu može pojaviti bolest i nakon završetka liječenja. Usprkos kliničkomu neočitovanju ileitisa u razdoblju i do nekoliko godina nema jamstva da je stado slobodno od infekcije.

## LITERATURA

1. COLLINS, A. M., R. J. LOVE., J. POZO., S. H. SMITH., S. McORIST (2000): Studies on the *ex vivo* survival of *Lawsonia intracellularis*. J. Swine Health Prod. 8, 211-215.
2. COOPER, D. M., C. J. GEBHART (1998): Comparative aspects of proliferative enteritis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 212, 1446-1451.
3. COOPER, D. M., D. L. SWANSON., S. M. BARNS., C. J. GEBHART (1997b): Comparison of the 16S ribosomal DNA sequences from the intracellular agents of proliferative enteritis in a hamster, deer and ostrich with the sequence of a porcine isolate of *Lawsonia intracellularis*. Int. J. Syst. Bacteriol. 47, 635-639.
4. COOPER, D. M., D. L. SWANSON., C. L. GEBHART (1997a): Diagnosis of proliferative enteritis in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from a hamster, horse, deer and ostrich using a *Lawsonia intracellularis*-specific multiplex PCR assay. Vet. Microbiol. 54, 47-62.
5. DROLET, R., D. LAROCHELLE., C. J. GEBHART (1996): Proliferative enteritis associated with *Lawsonia intracellularis* (ileal symbiont intracellularis) in white-tailed deer. J. Vet. Diagn. Invest. 8, 250-253.
6. DUHAMEL, G. E., E. C. KLEIN., R. O. ELDER., C. J. GEBHART (1998): Subclinical proliferative enteropathy in sentinel rabbits associated with *Lawsonia intracellularis*. Vet. Pathol. 35, 300-303.

7. FRANK, N., C. E. FISHMAN., C. J. GEBHART., M. LEVY (1998): *Lawsonia intracellularis* proliferative enteropathy in a weanling foal. *Equine Vet. J.* 30, 549-552.
8. FRISK, C. S., J. E. WAGNER (1997): Experimental hamster enteritis: An electron microscopic study. *Am. J. Vet. Res.* 38, 1861-1868.
9. GOGOLEWSKY, R. P., R. W. COOK., E. S. Batterham (1991): Suboptimal growth associated with porcine intestinal adenomatosis in pigs in nutritional studies. *Aust. Vet. J.* 68, 406-408.
10. GUEDES, R. M. C., C. J. GEBHART (2003a): Comparison of intestinal mucosa homogenate and pure culture of the homologous *Lawsonia intracellularis* isolate in reproducing proliferative enteropathy in swine. *Vet. Microbiol.* 93,159-166.
11. GUEDES, R. M. C., C. J. GEBHART (2003b): 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*. *Vet. Microbiol.* 91,135-145.
12. GUEDES, R. M. C., C. J. GEBHART (2003c): Preparation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies against *Lawsonia intracellularis*. *J. Vet.Diagn. Invest.* 15, 438-446.
13. GUEDES, R. M. C., C. J. GEBHART., G. AMBRUSTER., B. D. ROGGOW (2002a): Serologic follow-up of a repopulated swine herd after an outbreak of proliferative hemorrhagic enteropathy. *Can. J. Vet. Res.* 66, 258-263.
14. GUEDES, R. M. C., C. J. GEBHART., N. L. WINKLEMAN., R. A. MACKIE-NUSS., T. A. MARSTELLER., J. DEEN (2002c): Comparison of different methods for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *Can. J. Vet. Res.* 66, 99-107.
15. GUEDES, R. M. C., N. L. WINKLEMAN., C. J. GEBHART (2003): Relationship between the severity of porcine proliferative enteropathy and the infectious dose of *Lawsonia intracellularis*. *Vet. Rec.* 153, 432-433.
16. JENSEN, T. K., K. MOLLER., R. LINDERKRONA., S. E. JORSAL (2000): Detection of *Lawsonia intracellularis* in the tonsils of pigs with proliferative enteropathy. *Res.Vet.Sci.* 68, 23-26.
17. JONES, G. F., G. E. WARD., M. P. MURTAUGH., G. LIN., C. J.GEBHART (1993): Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in feces by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 31, 2611-2615.
18. JORDAN, D. M., J. F. KNITTEL., M. B. ROOF., K. SCHWARTZ., D. LARSON., L.J. HOFFMAN (1999): Detection of *Lawsonia intracellularis* in swine using polymerase chain reaction methodology. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11, 45-49.
19. KLEIN, E. C., C. J. GEBHART., G. E. DUHAMEL (1999): Fatal outbreaks of proliferative enteritis caused by *Lawsonia intracellularis* in young colony-raised rhesus macaques. *J. Med. Primatol.* 28, 11-18.
20. KNITTEL, J. P., D. M. JORDAN., K. J. SCHWARTZ., B. H. JANKE., M. B. ROOF., S. MCRIST., D. L. HARRIS (1998): Evaluation of antemortem polymerase chain reaction and serologic methods for detection of *Lawsonia intracellularis* -infected pigs. *Am. J. Vet. Res.* 59, 722-726.
21. KROLL, J., M. B. ROOF., S. MCRIST (2004): Evaluation of protective immunity in pigs following oral administration of an avirulent live vaccine of *Lawsonia intracellularis*. *Am. J. Vet.Res.* 65, 559-565.
22. LAVOIE, J. P., R. DROLET., D. PARSONS., R. LEGUILLETTE, R. SAUVAGEAU, J. SHAPIRO, L. HOULE, G. HALLÉ, C. J. GEBHART (2002): Equine proliferative enteropathy: A cause of weight loss, colic, diarrhoea and hypoproteinaemia in foals on three breeding farms in Canada. *Equine Vet. J.* 32, 418-425.
23. LAWSON, G. H. K., S. MCRIST., J. SABRI., R. A. MACKIE (1993): Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: Cultivation and maintenance in vitro. *J. Clin. Microbiol.* 31, 1136-1142.
24. LAWSON, G. H. K., A. C. ROWLAND ., N. MACLNTYRE (1985.): Demonstration of a new intracellular antigen in porcine intestinal adenomatosis and hamster proliferative ileitis. *Vet. Microbiol.* 10, 303-313.
25. LEMARCHAND, T. N., T. N. TULLY., S. M. SHANE, D. E. DUNCAN (1997): Intracellular Campylobacter-like organisms in emus (*Dromaius novaehollandiae*). *Vet. Pathol.* 34, 152-156.
26. MAPHOTER, M. E., L. A. JOENS., R. D. GLOCK (1987): Experimental reproduction of porcine proliferative enteritis. *Vet. Rec.* 121, 533-536.
27. MCRIST, S., D. E. BARCELLOS., R. J. WILSON (2003b): Global patterns of porcine proliferative enteropathy. *Pig J.* 51, 26-35.

28. McORIST S., R. BOID., G. H. K. LAWSON., I. McCONNELL (1987): Monoclonal antibodies to intracellular Campylobacter-like organisms of the porcine proliferative enteropathies. *Vet. Rec.* 121, 421-422.
29. McORIST, S., C. J. GEBHART (2006): Proliferative enteropathies U: Diseases of swine., ed. STRAW B.E., J.J.ZIMMERMAN., S.D'ALLAIRE., D.J.TAYLOR., 9<sup>th</sup> ed., Iowa State University Press, Ames, IA, pp727-737.
30. McORIST, S., S. JASNI., R. A. MACKIE., H. M. BERCHNEIDER., A. C. ROWLAND., G. H. K. LAWSON (1995b): Entry and release of the bacterium ileal symbiont intracellularis in cultured enterocytes. *Res. Vet. Sci.* 59,255-260.
31. McORIST, S., S. JASNI., R. A. MACKIE., N. MACLNTYRE., N. NEEF., G. H. K. LAWSON (1993): Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont antracellularis. *Infect. Immun.* 61, 4286-4292.
32. McORIST, S., G. H. K. LAWSON (1989): Reproduction of proliferative enteritis in gnotobiotic piglets. *Res. Vet. Sci.* 46, 27-33.
33. McORIST, S., G. H. K. LAWSON., A. C. ROWLAND., N. MACLNTYRE (1989b): Early lesions of proliferative enteritis of pigs and hamsters. *Vet. Pathol.* 26, 260-264.
34. McORIST, S., S. H. SMITH., L. E. GREEN (1997): Estimate of direct financial losses due to porcine proliferative enteropathy. *Vet. Rec.* 140, 579-581.
35. McORIST, S., S. H. SMIHT., T. KLEIN (1999): Monitored control programme for proliferative enteropathy on British pig farms. *Vet. Rec.* 144, 202-204.
36. McORIST, S., S. H. SMITH., M. F. H. SHEARN., M. M. CARR., D. J. S. MILLER (1996b): Threatment and prevention of porcine proliferative enteropathy with oral tiamulin. *Vet. Rec.* 139, 615-618.
37. NAGLIĆ, T., D. HAJSIG., J. MADIĆ., LJ. PINTER (2005): Veterinarska mikrobiologija: Specijalna bakteriologija i mikologija, Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu.: str.102-103.
38. ROBERTS, L., G. H. K. LAWSON., A. C. ROWLAND., A. H. LAING (1979): Porcine intestinal adenomatosis and its detection in closed pig herd. *Vet. Rec.* 104, 366-368.
39. ROBERTS, L., A. C. ROWLAND., G. H. K. LAWSON (1977): Experimental reproduction of porcine intestinal adenomatosis and necrotic enteritis. *Vet. Rec.* 1977; 100; 12-13.
40. ROBERTS, L., A. C. ROWLAND., G. H. K. LAWSON (1980): Porcine intestinal adenomatosis: Epithelial dysplasia and infiltration. *Gut.* 21,1035-1040.
41. ROWAN, T. G., T. L.J. LAWRENCE (1982): Amino-acid digestibility in pigs with signs of porcine intestinal adenomatosis. *Vet. Rec.* 110, 306-307.
42. SCHOEB, T. R., J. G. FOX. (1990): Enterocolitis associated with intraepithelial Campylobacter-like bacteria in rabbits. *Vet. Pathol.* 27, 73-80.
43. SCHWARTZ, K., J. KNITTEL., D. WALTER., M. ROOF., M. ANDERSON (1999): Effect of oral tiamulin on the development of porcine proliferative enteropathy in a pure-culture challenge model. *J. Swine Health Prod.* 7, 5-11.
44. SMITH, S. H., S. McORIST (1997): Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Res. Vet. Sci.* 62, 6-10.
45. STILLIS, H. R (1991): Isolation of an intracellular bacterium from hamsters (*Mesocricetus auratus*) with proliferative ileitis and reproduction of the disease with a pure culture. *Infect. Immun.* 59, 3227-3236.
46. TOMANOVA, K., P. BARTAK., J. SMOLA (2002): Detection of *Lawsonia intracellularis* in the Czech Republic. *Vet. Rec.* 151, 765-767.
47. WALTER, D., J. KNITTEL., K. SCHWARTZ., J. KROLL., M. ROOF (2001): Treatment and control of porcine proliferative enteropathy using different tiamulin delivery methods. *J. Swine Health Prod.* 9,109-115.
48. WILLIAMS, N. M., L. R. HARRISON., C. J. GEBHART (1996): Proliferative enteropathy in a foal caused by *Lawsonia intracellularis*-like bacterium. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8, 254-256.
49. WINKLEMAN, N. L., J. P. CRANE., G. D. ELFRING., D. M. MEEUWSE., K. J. DAME., S.L. BUCKHAM., C. J. GEBHART (2002): Lincomycin-medicated feed for the control of porcine proliferative enteropathy (ileitis) in swine. *J. Swine Health Prod.* 10, 106-110.
50. YOUNG, B.J (1969): A reliable method for demonstrating spirochaetes in tissue sections. *J. Med. Lab. Technol.* 26, 248-252.