

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA

**MIOCARDITE EOSINOFÍLICA E GRANULOMATOSA EM SUÍNOS DE
TERMINAÇÃO**

Autora: Elisa Rigo De Conti

PORTO ALEGRE

2021/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA

**MIOCARDITE EOSINOFÍLICA E GRANULOMATOSA EM SUÍNOS DE
TERMINAÇÃO**

Autora: Elisa Rigo De Conti

**Trabalho apresentado à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para a
obtenção da graduação em Medicina
Veterinária**

Orientador: Saulo Petinatti Pavarini

PORTO ALEGRE

2021/2

CIP - Catalogação na Publicação

De Conti, Elisa Rigo
MIOCARDITE EOSINOFÍLICA E GRANULOMATOSA EM SUÍNOS
DE TERMINAÇÃO / Elisa Rigo De Conti. -- 2021.
41 f.
Orientador: Saulo Petinatti Pavarini.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Veterinária, Curso de Medicina Veterinária, Porto
Alegre, BR-RS, 2021.

1. morte súbita. 2. falha cardíaca. 3. distúrbio
eosinofílico. 4. patologia suína. I. Pavarini, Saulo
Petinatti, orient. II. Título.

Elisa Rigo De Conti

MIOCARDITE EOSINOFÍLICA E GRANULOMATOSA EM SUÍNOS DE TERMINAÇÃO.

Aprovado em 23 NOV 2021

APROVADO POR:

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini

Orientador

Prof^a. Dr^a. Luciana Sonne

Membro da Banca

Msc. Manoela Piva

Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao Setor de Patologia, o qual possibilitou a realização deste trabalho. Eu sempre admirei muito o trabalho do grupo e, infelizmente, em virtude da pandemia, eu tive menos contato do que eu gostaria. O aprendizado que eu tive na realização deste trabalho foi imenso. Gostaria de agradecer em especial ao professor Saulo Pavarini por todo auxílio e paciência. À Manoela Piva, eu agradeço a dedicação, a parceria e a disponibilidade. Sem ela, com certeza, esse trabalho não teria sido realizado! Agradeço também aos outros integrantes do grupo que auxiliaram no trabalho de mestrado da Manoela.

Ao Setor de Suínos, o qual fui bolsista por seis anos, sou imensamente grata por todo aprendizado e oportunidades. Gostaria de agradecer em especial à Karine Takeuti, que me adotou no início do curso e garantiu que não me faltassem oportunidades de crescer e adquirir conhecimento. Trabalhar com ela sempre foi uma fonte de muito aprendizado e fico muito feliz em ter uma pessoa como ela de referência de profissional e amiga. Ao professor Fernando Bortolozzo, eu agradeço principalmente todas as cobranças. O crescimento que tive durante esses anos foram fruto da sua incansável dedicação em nos preparar para vida profissional. Também agradeço aos demais professores que convivi nesse período: prof. Ivo Wentz, prof. David Barcellos, prof^ª. Mari Bernardes, prof^ª. Ana Paula Mellagi e prof. Rafael Ulguim. Agradeço também a todos os alunos da pós-graduação e estagiários, pois todos auxiliaram, de alguma forma, no meu crescimento profissional e pessoal.

Aos meus amigos e colegas sou grata por todos os anos de parceria e cumplicidade. Em especial à Danielle Fermo, que desde o primeiro dia de aula foi parceria para todas as horas e amiga incansável. À Joana Magoga, que quando eu troquei de turma me acolheu e se tornou uma grande amiga que confio cegamente. Ao Deivison Fagundes, por sempre estar pronto para me ajudar.

À minha família agradeço o carinho e o suporte financeiro. Agradeço ao meu pai por sempre estar presente, me apoiando em todas as etapas da minha vida. Ele que teve que ser pai e mãe, nunca me deixou falar nada, sempre esteve feliz do meu lado e sei que é a pessoa que mais torce pela minha felicidade no mundo. A minha irmã Gabriela agradeço a paciência e cumplicidade. Amo vocês. Agradeço também ao Shoyu, a Schmia e a Amora.

À UFRGS pelo ensino gratuito e de qualidade. Ao CNPQ e FAPERGS pelo apoio financeiro nos seis anos como bolsista de iniciação científica.

RESUMO

A miocardite eosinofílica é uma condição não descrita em suínos. O objetivo do trabalho é relatar dois casos de miocardite eosinofílica e granulomatosa, sem causa definida, como causa de morte em suínos de terminação. Macroscopicamente, os corações se apresentavam acentuadamente globoso com áreas multifocais a coalescentes com pequenos nódulos brancos e áreas pálidas multifocais no epicárdio e no miocárdio. Na análise histopatológica do coração dos dois suínos foram observadas áreas multifocais a coalescentes de perda de cardiomiócitos e substituição por intenso infiltrado inflamatório de eosinófilos e proliferação de tecido conjuntivo. Havia ainda infiltrado moderado macrófagos epitelioides com ocasionais células gigantes multinucleadas, formando pequenas nodulações contendo no seu centro acúmulo de eosinófilos e material eosinofílico amorfo linear (degranulação eosinofílica de colágeno). Foram realizadas colorações histológicas especiais para a evidência de estruturas fúngicas associadas a lesão. Imuno-histoquímica foi realizada para circovírus suíno tipo 2 (PCV2) e *Toxoplasma* sp. Isolamento bacteriano em aerobiose para as possíveis bactérias presentes em miocardites foram realizadas. Testes moleculares de hibridização *in situ* e qPCR foram realizados para PCV2 e Circovírus Suíno tipo 3. Todos os testes realizados foram negativos. A miocardite eosinofílica não associada a agentes infecciosos é bem documentada na medicina humana e existem poucos casos na medicina veterinária. No conhecimento dos autores, este é o primeiro relato de casos de miocardite eosinofílica e granulomatosa em suínos.

Palavras-chave: morte súbita, falha cardíaca, distúrbio eosinofílico, patologia suína.

ABSTRACT

Eosinophilic myocarditis is an unreported condition in pigs. The aim of this work is to report two cases of sudden death duo to eosinophilic and granulomatous myocarditis, without a defined cause, in finishing pigs. In the gross evaluation, the hearts were markedly globose with multifocal to coalescent areas with small white nodules and pale multifocal areas in the epicardium and myocardium. In the microscopic evaluation, in both hearts, multifocal to coalescent areas of loss of cardiomyocytes and replacement by intense inflammatory infiltrate of eosinophils and proliferation of connective tissue were observed. There was also a moderate infiltrate of epithelioid macrophages with occasional multinucleated giant cells, forming small nodules with an accumulation of eosinophils and linear amorphous eosinophilic material in their center (eosinophilic collagen degranulation). Special histological stains were performed to show fungal structures associated with the lesion. Immunohistochemistry was performed for porcine circovirus type 2 (PCV2) and Toxoplasma sp. Bacterial isolation in aerobiosis for possible bacteria present in myocarditis were performed. In situ hybridization and qPCR tests were performed for PCV2 and Porcine Circovirus type 3. All tests performed were negative. Eosinophilic myocarditis not associated with infectious agents is well documented in human medicine and there are few cases in veterinary medicine. To the best of the authors' knowledge, this is the first case report of eosinophilic and granulomatous myocarditis in pigs.

Keywords: *sudden death, heart failure, eosinophilic dysfunction, pig pathology.*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Agentes patogênicos associados a doenças cardíacas inflamatórias em suínos. 15

LISTA DE ABREVIACÕES

HE – hematoxilina e eosina

qPCR – reao em cadeia da polimerase quatitativa

IHQ – imuno-histoquímica

ISH – hibridizao *in situ*

PCV2 – circovírus suíno tipo 2

PCV3 – circovírus suíno tipo 3

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	AVALIAÇÃO POST-MORTEM DO CORAÇÃO	11
2.2	PATOLOGIAS CARDÍACAS EM SUÍNOS	12
2.2.1	Anomalias Congênitas.....	12
2.2.2	Doenças do Pericárdio	12
2.2.3	Doenças do miocárdio	13
2.2.4	Doenças do endocárdio.....	14
2.2.5	Principais agentes etiológicos causadores de doenças inflamatórias cardíacas	15
2.2.6	Cardiomiopatias de origem tóxicas	18
2.3	DISTÚRBIOS EOSINOFÍLICOS	19
2.3.1	Hipersensibilidade Tipo 1	19
2.3.2	Sarcoma Granulocítico Eosinofílico.....	19
2.3.3	Síndrome Hipereosinofílica Idiopática.....	20
2.4	MIOCARDITE EOSINOFÍLICA	20
2.4.1	Medicina Humana	20
2.4.2	Medicina Veterinária	22
3	ARTIGO CIENTÍFICO.....	24
4	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A miocardite eosinofílica é uma doença inflamatória rara que é caracterizada por infiltrado de eosinófilos no miocárdio. A inflamação eosinofílica no coração pode ocorrer em casos de hipersensibilidade do tipo I (induzida por drogas ou idiopáticas), infecção parasitária (*Toxoplasma* sp. e *Sarcocystis* spp.), fúngica e por algas, síndrome paraneoplásica, leucemia granulocítica e síndrome hipereosinofílica (LILLIEHÖÖK; TVEDTEN, 2003). Miocardite eosinofílica é bem documentada na medicina humana (GINSBERG; PARRILLO, 2005), porém na medicina veterinária existem poucos relatos, sendo eles em chimpanzé (DE OLIVEIRA *et al.*, 2021), equino (LUETHY *et al.*, 2017) e cão (KEESHEN; CHALKLEY; STAUTHAMMER, 2016). Até o presente momento, no conhecimento dos autores, não há relato de miocardite eosinofílica causando morte em suínos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica deste documenta abordará a avaliação *post-mortem* do coração, as principais patologias cardíacas que acometem suínos e miocardite eosinofílica não relacionada a agentes infecciosos em outras espécies.

2.1 Avaliação *post-mortem* do coração

No suíno doméstico, o coração localiza-se no mediastino e se estende da segunda à quinta costela. A cavidade torácica pode ser aberta pela retirada do esterno, técnica usualmente utilizada em animais leves (< 50 kg), ou rebatendo lateralmente as costelas. Após aberta a cavidade, os pulmões e o coração podem ser visualizados e o saco pericárdico examinado *in situ*. A extensão que o coração ocupa dentro da cavidade é importante para dimensionar algum aumento de tamanho. O epicárdio e o pericárdio são lisos e brilhantes devido à presença de uma pequena quantidade de líquido seroso (ROBINSON; LOYNACHAN, 2019).

Após avaliação *in situ*, o coração pode ser removido junto com o pulmão e examinado quanto a forma, tamanho e cor anormais. O *rigor mortis* ocorre rapidamente no coração em comparação com o músculo esquelético e pode dar ao coração uma aparência muito firme ou mesmo rígida. Antes do início do *rigor mortis*, o coração pode parecer flácido ou dilatado, pois as câmaras podem dilatar-se antes da morte devido à doença em miocárdio ou secundariamente à autólise pós mortal. As câmaras cardíacas que dilatam *ante mortem*, frequentemente, apresentam fibrose no endocárdio que pode ser visualizado como áreas esbranquiçadas no miocárdio. Análise histopatológica deve ser realizada nessas seções para descartar doença miocárdica subjacente (MILLER; GAL, 2017).

Um método comum usado para examinar o coração é visualizar as estruturas do miocárdio na direção do fluxo sanguíneo. O átrio direito deve ser aberto desde a veia cava caudal até a aurícula atrial, permitindo uma visão do endocárdio atrial e da válvula tricúspide. O próximo corte deve ser em "forma de U" através do anel tricúspide e abaixo dele a válvula, descendo ao longo do septo até o ápice do ventrículo direito e subindo ao longo do septo da parede livre anexada através do trato de saída para a válvula semilunar do tronco pulmonar e artéria pulmonar. O átrio esquerdo deve ser incisado a partir do retorno da veia pulmonar à aurícula permitindo a mesma visualização do

átrio direito. A próxima incisão deve estender-se através da válvula mitral e da parede livre do ventrículo esquerdo até o ápice do ventrículo esquerdo. A válvula semilunar aórtica e o trato de fluxo de saída podem ser visualizados após a válvula mitral e o anel aórtico serem incisados. A incisão através das paredes livres ventriculares, átrios e septo pode auxiliar na visualização de lesões miocárdicas que não se estendem ao epicárdio ou endocárdio. Outra forma de incisão é o corte do coração em sessões pouco espessas, de no máximo 4 cm. Esse corte permite a visualização da dilatação das câmaras cardíacas e deve ser considerado na suspeita de aumento do volume do coração (ROBINSON; LOYNACHAN, 2019).

2.2 Patologias Cardíacas em Suínos

Diversas são as patologias que afetam o coração em suínos. Nesta revisão serão abordadas as principais afecções infecciosas e não infecciosas.

2.2.1 Anomalias Congênicas

Escassos são os trabalhos recentes avaliando anomalias congênicas em suínos. Na década de 1970, foi relatado ocorrência de anomalias congênicas cardiovasculares em cerca de 0,49 - 14,6% dos animais avaliados (SALSBURY, 1970; WANG, 1978). Hsu e Du identificaram 83 animais com anormalidades cardíacas em um estudo abrangendo 1.906 suínos. Este estudo identificou anomalias em suínos com idades entre um dia e quatro anos, mas encontrou a maior incidência de malformações em animais com 29 a 56 dias de idade. Um total de 122 anomalias cardíacas foram encontradas nos 83 suínos. Foram elas: displasia da válvula tricúspide (34,3 %), defeito do septo atrial (25,4 %), estenose subaórtica (18 %), defeito do septo ventricular em (7,4 %), canal atrioventricular comum persistente (6,5 %), malformação da banda moderadora (5,7 %), veia cava persistente (0,8 %), *truncus arteriosus* persistente (0,8 %) e estenose pulmonar (0,8 %) (HSU; DU, 1982). Em trabalho mais recente, o qual avaliou 471 suínos, defeitos cardíacos congênicos foram diagnosticados em 6,4% dos animais (HOLYOAKE *et al.*, 2006).

2.2.2 Doenças do Pericárdio

As lesões mais comuns associadas ao pericárdio são o hidropericárdio e a pericardite. Independente da origem, o aumento do líquido no pericárdio aplica pressão externa ao coração, o que pode resultar em diminuição do preenchimento diastólico das câmaras e congestão venosa (tamponamento cardíaco por aumento de fluido intrapericárdico). O hidropericárdio é associado à doença do edema (SMITH; HALLS, 1967), doença do músculo branco (NIELSEN *et al.*, 1989), caquexia, hipoalbuminemia e insuficiência cardíaca congestiva aguda e crônica (MILLER; GAL, 2017), como exemplo a cardiomiopatia dilatada (CRUZ *et al.*, 2019; PIVA *et al.*, 2020). A presença de filamentos delicados de fibrina em meio ao hidropericárdio é comum, e pode ser proveniente de transudato modificado e deve-se ter como diferencial a pericardite fibrinosa (MILLER; GAL, 2017).

A pericardite cursa comumente com a expansão da cavidade pericárdica por exsudato inflamatório e é uma das causas mais importantes de doença cardíaca em suínos (PIVA *et al.*, 2020). O exsudato pode ser fibrinoso, supurativo ou fibrinossupurativo com base na quantidade de fibrina, no número de células inflamatórias e na presença ou ausência de bactérias piogênicas. A pericardite pode surgir da disseminação hematogênica de bactérias ou extensão linfática da inflamação de tecidos adjacentes, como pulmões ou pleura (COELHO *et al.*, 2014). Macroscopicamente, se apresentam como expansão do pericárdio por acentuada quantidade de líquido amarelado e com deposição de fibrina. A pericardite pode se tornar crônica, levando a fibrose entre o pericárdio e o saco pericárdico, e pode resultar em insuficiência cardíaca congestiva crônica. As principais bactérias envolvidas nas pericardites estão listadas na Tabela 1 (COELHO *et al.*, 2014; ROBINSON; LOYNACHAN, 2019; PIVA *et al.*, 2020).

2.2.3 Doenças do miocárdio

A inflamação do miocárdio, independentemente da causa, pode alterar a função cardiovascular ao induzir degeneração e necrose miocárdica, alterar a condução elétrica e interromper a contração miocárdica. Esses fatores podem resultar em morte aguda associada à disritmia ou contribuir para a insuficiência cardíaca crônica. Diversos patógenos podem causar miocardite (Tabela 1), grande parte agentes virais que chegam por disseminação hematogênica (LEONE *et al.*, 2019).

Falhas nutricionais podem gerar danos ao miocárdio. A doença do músculo branco (*mulberry heart disease*), é uma patologia comumente associada a deficiência de selênio e / ou vitamina E (PALLARÉS *et al.*, 2002). Os achados macroscópicos geralmente incluem hidropericárdio, edema pulmonar, hidrotórax e hemorragia cardíaca epicárdica e transmural. Já na histopatologia, hemorragia intersticial, edema, quantidades variáveis de degeneração, necrose e mineralização de cardiomiócitos podem ser observadas (OROPEZA-MOE *et al.*, 2019). As lesões histopatológicas podem variar de acordo com a cronicidade das lesões. Existem relatos mostrando tal condição em suínos com níveis normais de selênio e vitamina E (NIELSEN *et al.*, 1989; SHEN *et al.*, 2011), nos quais a causa primária da lesão não é identificada.

A cardiomiopatia dilatada é caracterizada pela redução da contratilidade e dilatação ventricular, unilateral ou bilateral, a qual pode progredir para insuficiência cardíaca congestiva crônica (MILLER; GAL, 2017). Essa condição usualmente não é associada a uma causa específica (COLLINS; EATON; HOENERHOFF, 2015; PIVA *et al.*, 2020). Na macroscopia, além da dilatação cardíaca, o padrão lobular hepático aumentado (fígado de noz-moscada) e edema pulmonar são observados com frequência. Já na microscopia, hipertrofia severa e vacuolização de cardiomiócitos, bem como desordem de miofibras são relatados (CRUZ *et al.*, 2019). Recentemente, essa doença foi reproduzida experimentalmente em suínos de creche, e a condição foi associada ao uso de farelo de soja de baixa qualidade (CRUZ *et al.*, 2019).

2.2.4 Doenças do endocárdio

A endocardite valvular é a doença do endocárdio reportada em suínos. Essa é associada a infecção de diversas bactérias (Tabela 1), com destaque para *Streptococcus suis* e *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Causas fúngicas e parasitárias são raras (ROBINSON; LOYNACHAN, 2019). A válvula mitral é mais comumente afetada, seguida pelas válvulas aórtica, tricúspide e pulmonar. Independentemente da válvula afetada, os achados *post-mortem* geralmente consistem em um ou mais massas irregulares e friáveis que podem envolver o endocárdio mural adjacente. Microscopicamente, as lesões agudas são compostas por endotélio valvar ulcerado coberto por camadas concêntricas de fibrina, agregados bacterianos e número variável de células inflamatórias, principalmente, neutrófilos degenerados. O tecido de granulação pode cobrir as válvulas em lesões

crônicas. Infartos multifocais em outros órgãos, especialmente nos rins, também podem ocorrer quando os trombos se desprendem do endocárdio e formam os êmbolos (MILLER; GAL, 2017).

Tabela 1 – Agentes patogênicos associados a doenças cardíacas inflamatórias em suínos.

Local	Agente etiológico
Endocárdio	<i>Trueperella pyogenes</i>
	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>
	<i>Streptococcus suis</i> , <i>Streptococcus</i> spp.
Miocárdio	Septicemia bacteriana
	Vírus da Encefalomiocardite
	Vírus da Febre Aftosa
	Circovírus Suíno tipo 2
	Circovírus Suíno tipo 3
	Síndrome Reprodutiva e Respiratória dos Suínos
	Doença de Aujeszky
	Doença Vesicular dos Suínos
	Seneca Valley Vírus
	Doença do Edema
Pericárdio e epicárdico	<i>Actinobacillus</i> sp.
	<i>Glaesserella parasuis</i>
	<i>Mycoplasma hyorhinis</i>
	<i>Pasteurella multocida</i>
	<i>S. suis</i> , <i>Streptococcus</i> spp.
	Septicemia bacteriana

Fonte: adaptado de COELHO *et al.* (2014); ROBINSON; LOYNACHAN, (2019); PIVA *et al.*, (2020).

2.2.5 Principais agentes etiológicos causadores de doenças inflamatórias cardíacas

Diversos agentes etiológicos já foram descritos por relatar doenças inflamatórias cardíacas em suínos. Os principais patógenos serão abordados a seguir.

2.2.5.1 Parasitários

A trichinelose é uma das doenças parasitárias com maior importância na saúde pública envolvendo suínos em diversos países do mundo, sendo o Brasil considerado livre desse nematoídeo (SOUZA; SPOSITO; MERLINI, 2013). Os parasitas do gênero *Trichinella* spp. são nematódeos intracelulares que entram na circulação através da barreira intestinal e são distribuídas por todo o corpo e penetram no sarcoma das células do músculo esquelético. Depois de entrar no miócito, a larva pode se manter ali por meses ou anos. Durante a entrada de *Trichinella* spp. no músculo, pode ser observado infiltrado eosinofílico na microscopia, sendo esse substituído por uma cápsula de colágeno após a formação do cisto do nematoídeo na célula. Na macroscopia não são observadas alterações (DYAB; AHMED; GAREH, 2019).

O suíno pode ser hospedeiro intermediário de *Sarcocystis* spp., sendo o canino o principal hospedeiro definitivo. Suínos criados soltos em contato com outras espécies são mais passíveis de se infectar por esse protozoário. Apesar de normalmente observado no músculo esquelético, há relatos da identificação do agente no coração (HUANG *et al.*, 2019). Em caso de ruptura dos cistos, as estruturas parasitárias livres podem gerar recrutamento de eosinófilos, o que, quando ocorre no coração, tem o potencial de gerar uma miocardite eosinofílica (ROBINSON; LOYNACHAN, 2019).

A toxoplasmose é esporadicamente diagnóstica em suínos e normalmente está associado a perdas no plantel reprodutivo (BASSO *et al.*, 2015). *Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular com potencial zoonótico cujos hospedeiros definitivos são os felinos. Na macroscopia, a visualização dos cistos não é possível. Na microscopia, eventualmente é difícil de visualizar os cistos, mas inflamação, hemorragia e degeneração com necrose focal podem ser sugestivos da infecção (BEZERRA *et al.*, 2012).

2.2.5.2 Bacterianos

Diversas bactérias podem estar envolvidas em reações inflamatórias no coração (Tabela 1). De forma geral, as bactérias chegam por via hematogena no coração ou por infecção adjacentes no

pulmão e pleura, e podem causar miocardite, e com frequência abrangendo também o pericárdio (ROBINSON; LOYNACHAN, 2019).

Trabalho recente objetivou identificar a frequência de lesões macroscópicas e microscópicas e os agentes bacterianos envolvidos em pericardites em suíno no abate no Estado do Rio Grande do Sul. No total foram investigados 91 casos de pericardites, 89% deles foram classificados como crônicos na histopatologia e pleurite crônica foi observada em 47% dos pulmões correspondentes. Os agentes bacterianos isolados foram *Streptococcus* spp., *Pasteurella multocida*, *Glasserella parasuis* e *Streptococcus suis* (COELHO *et al.*, 2014). Além de pericardites, *S. suis* possui significativa importância nas endocardites valvulares (SAVIC *et al.*, 2020).

2.2.5.3 Virais

Infecções virais podem ter efeitos secundários no sistema cardiocirculatório e são diversos os vírus a causarem distúrbios cardíacos (Tabela 1). Entre os vírus a causar lesão direta no coração, tem destaque o vírus da encefalomiocardite, vírus da Febre Aftosa, circovírus suíno tipo 2 e tipo 3 (PCV2 e PCV3), os quais serão abordados em seguida.

O vírus da encefalomiocardite infecta diversas espécies, incluindo humanos. O reservatório natural são os roedores, os quais não mostram sinais clínicos (GELMETTI *et al.*, 2006). A principal lesão causada por esse vírus é a miocardite, a qual é observada em leitões jovens (BILLINIS *et al.*, 2004). Quando infectadas, matrizes podem apresentar perdas reprodutivas (KOENEN *et al.*, 1994). Na macroscopia, as lesões observadas na fase aguda da infecção são múltiplos focos circulares a lineares no miocárdio, principalmente no ventrículo direito. Excesso de líquido pleural, peritoneal e no pericárdico também pode ser encontrado, além de edema dos pulmões e hiperemia das tonsilas. Na microscopia, os focos no miocárdio consistem em necrose com degeneração do sarcoplasma e mineralização por vezes com infiltrado linfocitário. Outras lesões extra cardíacas são observadas no encéfalo e se caracterizam por meningoencefalite não supurativa (BREWER *et al.*, 2001; VANSTEENKISTE *et al.*, 2016).

A Febre Aftosa possui grande importância econômica, principalmente, na bovinocultura. Contudo, suínos também podem ser afetados (ALEXANDERSEN *et al.*, 2003). Além das lesões vesiculares e ulcerativas típicas da doença, também está bem estabelecido que o vírus da Febre Aftosa pode causar infecção no miocárdio, levando à insuficiência cardíaca e morte súbita. Os

achados de necropsia associados à miocardite podem variar de ausência completa de lesões visíveis a áreas distintas de palidez na superfície cardíaca que se estendem para o miocárdio subjacente, comumente descrito como “coração tigrado”. A efusão nas cavidades torácicas e/ou abdominais pode ocorrer em casos subagudos ou crônicos, indicando insuficiência cardíaca congestiva, mas frequentemente estão ausentes em casos agudos de progressão rápida. Na microscopia, achados sugestivos de miocardite induzida pelo vírus da febre aftosa são degeneração e necrose dos cardiomiócitos, a qual podem ocorrer como células individuais, pequenos agrupamentos ou podem ser regionalmente extensos associado a graus variados de infiltrado inflamatório predominante de linfócitos e plasmócitos, além de edema (STENFELDT *et al.*, 2016).

O PCV2 é um vírus endêmico em diversos países e causa perdas econômicas significativas à suinocultura há décadas (SEGALÉS, 2012). A insuficiência cardíaca tem sido descrita devido à miocardite necrosante aguda, com vasculite crônica principalmente no coração, rins e tecidos linfóides. A miocardite por PCV2 é comumente observado em fetos abortados em consequência a circovirose. O antígeno do PCV2 já foi detectado no citoplasma dos cardiomiócitos e nas células endoteliais vasculares no miocárdio, o que mostra um tropismo direto do vírus pelas células cardíacas e endoteliais (OPRIESSNIG; JANKE; HALBUR, 2006). Já o PCV3 foi recentemente descrito e sua patogenia ainda não é bem compreendida (PHAN *et al.*, 2016). Apesar de haver poucos trabalhos, tanto com inoculação experimental quanto em animais infectados a campo, é observado um tropismo do PCV3 por cardiomiócitos e endotélio vascular (DE CONTI *et al.*, 2021; TEMEEYASEN *et al.*, 2021).

2.2.6 Cardiomiopatias de origem tóxicas

Ionóforos são amplamente usados no controle de coccídios e promotores de crescimento em suínos (DORNE *et al.*, 2013). Os principais ionóforos utilizados são a monensina, a narasina e a lasalocida (ENSLEY; RADKE, 2019). Embora as intoxicações agudas por ionóforos em suínos não são comuns, a ocorrência é frequente o suficiente para justificar sua inclusão como diagnóstico diferencial em miocardites em suínos (CARPENTER, 2005). Podem ocorrer com contaminação do meio ambiente ou da ração ou em associação com práticas de manejo, o que pode afetar grandes números de animais. A intoxicação também pode ocorrer quando é feita a associação de ionóforos com tiamulina (GANTER; KIECKHOFER; KUCZA, 1995; CARPENTER, 2005). Os sinais

clínicos são anorexia, diarreia, dispneia, ataxia, depressão, decúbito e morte. As lesões incluem cardiomiopatia degenerativa focal, necrose do músculo esquelético e insuficiência cardíaca congestiva (NOVILLA, 1992). Trabalho que relata toxicidade aguda em fêmeas gestantes observou áreas necróticas multifocal no miocárdio na microscopia, mas nenhuma mineralização ou infiltrado inflamatório foram observados (SHIMSHONI *et al.*, 2014). Já outros relatos descrevem infiltrado eosinofílico acompanhando a necrose muscular (SANFORD; MCNAUGHTON, 1991).

2.3 Distúrbios Eosinofílicos

A produção excessiva de eosinófilos pode ocorrer de forma sistêmica por reações alérgicas ou neoplasias. Em seguida serão abordados a hipersensibilidade do tipo 1 e sarcoma granulocítico eosinofílico.

2.3.1 Hipersensibilidade Tipo 1

A reação de hipersensibilidade tipo 1 ocorre rapidamente após o contato do animal com o alérgeno. Na primeira fase dessa reação, ocorre a liberação de IgE e o recrutamento de basófilos e mastócitos. Durante a resposta tardia, de quarto à 24 h após a exposição, ocorre o recrutamento de eosinófilos e macrófagos no tecido. A maioria das reações de hipersensibilidade do tipo I são localizadas e afetam o tecido que entra em contato direto com o antígeno, como exemplo a pele e o trato respiratório. Quando ocorrem de forma sistêmica, envolvem degranulação de basófilos circulantes ou mastócitos teciduais em vários locais. Tal evento pode levar a reações anafilática. Os alérgenos sensibilizadores nesse caso são frequentemente drogas ou picadas de insetos (DAY; SCHULTZ, 2019).

2.3.2 Sarcoma Granulocítico Eosinofílico

O sarcoma granulocítico é uma apresentação morfológica do sarcoma mieloide, uma neoplasia hematopoiética que afeta ossos (medula óssea) ou sítios extramedulares. Os sarcomas granulocíticos podem originar-se de precursores variavelmente diferenciados, tanto de linhagens neutrofílicas quanto eosinofílicas. Tais neoplasias possuem aparência esverdeada devido a

degranulação dos eosinófilos, sendo também chamados de cloromas (tumor verde) (BRUNNING *et al.*, 2001). Em um relato de cloroma em suíno, observou sobre as costelas e abaixo da pleura parietal áreas verdes, lisas e opacas, de contornos irregulares, não circunscritas, moles, homogêneas e levemente salientes. Massas semelhantes também foram observadas em costelas, vertebras, rins e linfonodos. Na microscopia, foi observado um aglomerado de células redondas com grânulos citoplasmáticos fortemente eosinofílicos, dispostos em um padrão difuso com estoma escasso ou indistinto (BRUM *et al.*, 2012).

2.3.3 Síndrome Hipereosinofílica Idiopática

A síndrome hipereosinofílica idiopática exclui todos os pacientes com eosinofilia nos quais uma causa pode ser encontrada para justificar a eosinofilia. Devido à raridade da doença e à incerteza do diagnóstico, pouco se sabe sobre a variação geográfica ou a possível influência de fatores ambientais. Os eosinófilos ativados causam danos a vários órgãos devido a degranulação. No coração, a produção de peroxidases eosinofílicas e a infiltração de eosinófilos pode causar pericardite constrictiva, fibrose endomiocárdica, miocardite e formação de trombos (BRITO-BABAPULLE, 2003).

2.4 Miocardite Eosinofílica

As miocardites eosinofílicas são relacionadas a diversas causas, principalmente por agentes infecciosos. Neste tópico serão abordadas as miocardites eosinofílicas de causas não infecciosas já relatadas na medicina humana e medicina veterinária.

2.4.1 Medicina Humana

A miocardite eosinofílica em humanos consiste em inflamação aguda do miocárdio, que pode ocorrer isoladamente ou como parte de distúrbios sistêmicos que acometem vários órgãos, como nas hipersensibilidades, doenças imunomediadas, síndrome hipereosinofílica idiopática, doenças parasitárias e medicamentosas. Essa condição pode ou não ser acompanhada de

hipereosinofilia sistêmica. Não há predisposição estabelecida por sexo, idade, etnia ou região geográfica (LEONE *et al.*, 2019).

O primeiro relato de miocardite eosinofílica em humanos é de 1942 e correlacionou a patologia como uma reação a utilização de sulfonamidas (FRENCH; WELLER, 1942). Desde então, diversas drogas foram associadas a miocardites, sendo as mais comuns hidroclorotiazida, metildopa, penicilina, ampicilina, sulfadiazina e sulfisoxazol (FENOGLIO JR; MCALLISTER JR; MULLICK, 1981). Acredita-se que o mecanismo responsável seja uma reação alérgica de hipersensibilidade retardada, e não um efeito tóxico direto da droga (GINSBERG; PARRILLO, 2005). Além da correlação com medicamentos, a miocardite eosinofílica em humanos já foi relacionada com reações a transplantes (BAANDRUP, 2012), agentes parasitários, como a toxocaríase (SHIBAZAKI *et al.*, 2016) e também com causa idiopática (COURAND *et al.*, 2012).

Em um trabalho que avaliou achados de necropsia de 69 casos de miocardite eosinofílica, observou-se que 50% dos pacientes tiveram infiltrado inflamatório eosinofílico em outros órgãos, mas não tão intensos quanto o miocárdio. O infiltrado de eosinófilos no miocárdio varia de discreto a acentuado, mas esse achado histopatológico não se correlacionou com a gravidade dos sintomas clínicos ou a incidência de morte causada pela condição (BURKE *et al.*, 1991).

Clinicamente, os casos são heterogêneos, podendo variar de indivíduos assintomáticos, dor no peito, arritmias cardíacas ou ainda morte súbita. Microscopicamente a enfermidade é caracterizada por infiltrado inflamatório intersticial que variam de acentuados a discretos, podendo ser generalizado de eosinófilos, associado a necrose de cardiomiócitos. Em casos de hipersensibilidade medicamentosa, o infiltrado é rico em eosinófilos com pequenas formações granulomatosas, com infiltrado de macrófagos. As características adicionais que podem ser observadas incluem necrose de cardiomiócitos e fibrose intersticial. A necrose de cardiomiócitos é comum na síndrome hipereosinofílica e está associada a extensa infiltração eosinofílica no miocárdio, o que resulta em áreas cicatriciais e cardiomiopatia restritiva (AL ALI *et al.*, 2006). O mecanismo pelo qual os eosinófilos têm como alvo particular o coração na miocardite eosinofílica é pouco elucidado. Níveis elevados de IL-5 e IL-13, citocinas que causam hipereosinofilia, foram observadas no pericárdio de um paciente com miocardite eosinofílica necrosante aguda. Os pesquisadores especulam que a IL-5 foi produzida no coração durante a miocardite aguda, o que pode estimular a produção, ativação e recrutamento de eosinófilos para o miocárdio (KAZAMA *et al.*, 2003).

2.4.2 Medicina Veterinária

No conhecimento dos autores, existem três relatos de miocardite eosinofílica idiopática em medicina veterinária. Já a miocardite eosinofílica associada a parasitos, como *Toxocara* sp. (ARÁOZ *et al.*, 2019), não é uma condição tão rara em cães. Os suínos são susceptíveis a diversos patógenos causadores de miocardite (Tabela 1). A presença de parasitos é a mais comumente associada a infiltrados eosinofílicos em diversos órgãos e espécies. Todavia, apesar de ser passível a miocardite eosinofílica associada a parasitos em suínos, espera-se encontrar lesões evidentes em outros órgãos, principalmente, fígado e pulmão (SOMMERFELT *et al.*, 2004).

Em 2016, foi relatado caso de miocardite eosinofílica em canino sem causa primária diagnosticada. Tratava-se uma cadela castrada de oito anos, da raça Munsterlander, que apresentava febre baixa e intolerância a exercícios. No exame físico, foram detectados taquicardia e sopro cardíaco sistólico à direita grau II/VI. A ecocardiografia revelou espessamento acentuado das paredes atrial e ventricular com ecogenicidade mista e hipertrofia concêntrica dos ventrículos esquerdo e direito e disfunção sistólica equívoca. O nível sérico de troponina I cardíaca estava elevado. O exame *post mortem* revelou miocardite eosinofílica crônica grave associada a fibrose intersticial acentuada. Ao corte, o miocárdio apresentava áreas pálidas multifocais a coalescentes. Teste sorológico, histopatologia e imuno-histoquímica (IHQ) foram realizados e não revelaram nenhum agente infeccioso ou neoplasia subjacente (KEESHEN; CHALKLEY; STAUTHAMMER, 2016).

Caso semelhante foi relatado em um equino. O animal da raça Quarto de Milha apresentou colapso em repouso e arritmias cardíacas múltiplas. O cavalo foi posteriormente diagnosticado com miocardite eosinofílica na necropsia, não relatada anteriormente em cavalos. Apesar dos diversos testes, nenhum agente etiológico foi identificado (LUETHY *et al.*, 2017). Em 2021, a mesma condição foi descrita em um chimpanzé de cativeiro (*Pan troglodytes*). O animal não apresentava histórico prévio de doença cardíaca, o qual evoluiu para óbito em 48 horas. Causas tóxicas e infecciosas foram descartadas. O chimpanzé teve eosinofilia em diferentes ocasiões em exames realizados em anos anteriores. Na histopatologia, o animal apresentava miocardite necrotizante, difusa, com infiltrado de linfócitos e plasmócitos moderado rico em eosinófilos. Os autores

descreveram o caso como comparável à miocardite eosinofílica humana secundária à síndrome hipereosinofílica (DE OLIVEIRA *et al.*, 2021).

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Neste item é apresentado o artigo intitulado “Eosinophilic and Granulomatous Myocarditis in Finishing Pigs”.

Eosinophilic and Granulomatous Myocarditis in Finishing Pigs

Elisa R. De Conti¹, Manoela M. Piva¹, Ronaldo M. Bianchi¹, Claiton I. Schwertz¹, Luan C. Henker¹, Marina P. Lorenzetti¹, Fabio A. Vannucci², Saulo P. Pavarini¹

¹*Department of Veterinary Pathology, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9090 Pr. 42505, Porto Alegre, Brazil*

²*Veterinary Diagnostic Laboratory, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, 1333 Gortner Avenue, Saint Paul, USA*

* Corresponding author: saulo.pavarini@ufrgs.br

SUMMARY

Eosinophilic myocarditis is not a usual condition in pigs. We report two finishing pigs, from different farms, with unexplained eosinophilic and granulomatous myocarditis as the cause of sudden death. The most relevant gross finding in both cases was the globular heart size increase, accompanied by multifocal to coalescent areas with small white nodules in the epicardium, in addition to pale multifocal areas. It was also observed white coalescent areas that interspersed the myocardium, most evident in the ventricular muscles. In the histopathology evaluation, multifocal to coalescent areas of loss of cardiomyocytes and replacement by intense inflammatory infiltrate of eosinophils and proliferation of connective tissue were observed in both hearts. There was also a moderate infiltrate of epithelioid macrophages with occasional multinucleated giant cells, forming small nodules containing an accumulation of eosinophils and linear amorphous eosinophilic material in the center (eosinophilic collagen degranulation). Immunohistochemistry was performed for Porcine Circovirus type 2 (PCV2) and *Toxoplasma gondii*. Bacterial isolation in aerobiosis for possible bacteria present in myocarditis were performed. *In situ* hybridization and

28 qPCR tests were performed for PCV2 and Porcine Circovirus type 3. All tests were negative. The
29 eosinophilic myocarditis with no pathogen infection associated is well document in human
30 medicine and have few cases in veterinary medicine.

31

32 **Keywords:** eosinophilic myocarditis, heart fibrosis, sudden death, swine pathology.

33

34 Eosinophilic myocarditis is a rare inflammatory disease that is characterized by eosinophilic
35 infiltration in the myocardium. Eosinophilic inflammation may occur in association with a
36 hypersensitivity reaction (drug-induced), parasitic infection (*Toxoplasma* sp. and *Sarcocystis* spp.),
37 fungi and prototheca, paraneoplastic syndrome, granulocytic leukemia, hypereosinophilic
38 syndrome, or idiopathic (Lilliehöök and Tvedten, 2003). Eosinophilic myopathy is well
39 documented in human medicine (Ginsberg and Parrillo, 2005). However, in veterinary medicine
40 there are few reports, and they are in chimpanzees (de Oliveira *et al.*, 2021), equine (Luethy *et al.*,
41 2017) and canine (Keeshen *et al.*, 2016). This report describes cases of eosinophilic and
42 granulomatous myocarditis in two finishing pigs.

43 Two female finishing-stage pigs aged 160 (Pig 1) and 134 (Pig 2) days died suddenly in
44 November 2018. The animals were form two different farms belonging to the same agroindustry,
45 in Santa Catarina, Brazil. The farms had 18 and 20 thousand pigs each and were also a gilt
46 development united. The pigs arrived in the farm with an average of 70 days of live, then the
47 selected females for replacement were transferred at approximately 140 days, and the females not
48 selected, and the males were sent to slaughter at 175 days, with an average weight of 125 kg. In
49 both farms, feeding was automated, with *ad libitum* feed offer, and the floor was of solid and slat
50 concrete. The pigs received commercial vaccines for Porcine Circovirus type 2 (PCV2) and
51 *Mycoplasma hyopneumoniae* (21 and 42 days), in addition to autogenous vaccines for

52 *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* (42 and
53 63 days).

54 Both animals had a good body score, and no previous clinical signs were reported. Pig 1
55 was found dead in the pen and Pig 2 died when walking to another pen. During the necropsy, tissue
56 samples were fixed in 10% neutral buffered formalin, processed routinely for histopathology,
57 embedded in paraffin wax, and stained with haematoxylin and eosin (HE). Duplicate tissue samples
58 were frozen at - 20 °C for bacterial culture and molecular analysis. Beside HE stain, PAS stain
59 (Periodic acid-Schiff) and Grocott Silver Methanamine stain (Histokit, EasyPath®, Erviagas, SP,
60 Brazil) were performed according to the manufacturer's instructions. The purpose of this
61 examination was to search fungal structures associated with the lesion. Immunohistochemistry
62 (IHC) anti-PCV2 and anti-*Toxoplasma gondii* were performed as described by Pereira *et al.* (2018)
63 and Antoniassi *et al.* (2013), respectively. Bacterial isolation was performed from heart fragment,
64 which were seeded on blood and MacConkey agar plates and incubated at 36°C +/- 1°C for 18 to
65 48 hours in an aerobic atmosphere. *In situ* hybridization (ISH) and quantitative polymerase chain
66 reaction (qPCR) were performed, from cardiac tissue, for the detection of PCV2 and Porcine
67 Circovirus type 3 (PCV3), as described by De Conti *et al.* (2021) and Wang *et al.* (2019).

68 At necropsy, the most relevant finding in both cases was heart size increase, accompanied
69 by multifocal to coalescent areas with small white nodules (1-2 mm) in the epicardium, in addition
70 to pale multifocal areas. At cut, there was white coalescent areas that interspersed the myocardium,
71 most evident in the ventricular muscle. The Pig 1 also had diffuse pericardial adhesion. In lungs,
72 there was mild cranioventral consolidation, characterized by firm, dark red and depressed areas, in
73 addition to areas of atelectasis and pleural thickening, with adhesions to the costal pleura. The lungs
74 were not collapsed, with a shiny aspect, and a moderate amount of serosanguineous fluid (edema)
75 flowed from the cut. Trachea and large bronchi had moderate amount of foamy liquid (edema). The

76 tracheobronchial and mediastinal lymph nodes were markedly increased in size, firm and white,
77 and histologically showed neutrophil and macrophage infiltrate in subcapsular and medullary
78 sinuses. The liver and kidneys were enlarged and congested, and the conjunctival mucosa was
79 congested.

80 Microscopical examination of both hearts revealed multifocal to coalescent areas of loss of
81 cardiomyocytes and replacement by intense inflammatory infiltrate mainly of eosinophils, and
82 proliferation of connective tissue. Surrounding these areas, sometimes forming nodules, there are
83 inflammatory infiltrate of eosinophils, epithelioid macrophages, multinucleated giant cells,
84 lymphocytes, and plasma cells, and, in the center, a linear eosinophilic amorphous material. The
85 pericardium is markedly thickened by an inflammatory infiltrate similar to the previously
86 described, in addition to proliferation of fibrous connective tissue and neovascularization. The
87 special histopathological stains performed to show fungal structures, the immunohistochemistry
88 for PCV2 and *Toxoplasma gondii*, the bacterial isolation, the *in situ* hybridization and qPCR for
89 PCV2 and PCV 3 were all negative.

90 The Pig 1 also had tracheobronchial and mediastinal lymph nodes with marked infiltrate of
91 neutrophils and eosinophils in the subcapsular and medullary sinuses, associated with edema and
92 fibrin deposition in the same area. The liver with moderate diffuse congestion and kidney with
93 nodular multifocal areas of moderate inflammatory infiltrate composed of lymphocytes, plasma
94 cells and macrophages in the interstitium (interstitial nephritis). The lungs showed moderate
95 multifocal bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) hyperplasia, which may be due to a
96 *Mycoplasma hyopneumoniae* infection, associated with moderate peribronchiolar and
97 peribronchial inflammatory infiltrate of lymphocytes, plasma cells, and macrophages in addition
98 to moderate multifocal areas of atelectasis. There was also intense congestion, mild hemorrhage, a
99 moderate number of alveolar macrophages with intracytoplasmic brownish granular pigment (heart

100 failure cells), and moderate pleuritis. The stomach had discrete areas of epithelial erosion and large
101 and small intestines had a marked multifocal inflammatory infiltrate, composed of eosinophils,
102 lymphocytes, and plasma cells. The stomach was with pronounced diffuse parakeratotic
103 hyperkeratosis in the non-glandular portion. The liver had mild diffuse hepatocellular
104 macrovacuolar degeneration, the spleen with moderate white pulp rarefaction and macrophage
105 infiltrate, and the kidney with mild multifocal interstitial nephritis.

106 The diagnosis of eosinophilic and granulomatous myocarditis in the two pigs in this study
107 was based on pathological findings. The main pathogens with potential to cause myocarditis were
108 rule out as all the histochemical techniques, bacterial and molecular examination were negative.
109 Fungi or parasites structures were expected to be seen as the eosinophilic infiltrated is usually
110 related to them (Chauhan *et al.*, 2020; Pang *et al.*, 1986), but none was found. Another important
111 differential that was investigated was PCV3, as recent works showed PCV3 causing myocarditis
112 (Phan *et al.*, 2016), but the eosinophilic infiltrated in myocardium is not reported in any PCV
113 reported in pigs (Opriessnig *et al.*, 2006; De Conti *et al.*, 2021), and both ISH and qPCR were
114 negative.

115 The lack of detection of any pathogen with the potential to generate immune cells
116 recruitment as the once seen in those cases can suggest a possible immune disorder. A similar
117 condition has been described in a 17-y-old chimpanzee with no previous history of cardiac disease
118 that progressed to death within 48 h. The authors suggested that this case is compatible with an
119 unusual eosinophilic myocarditis with clinical evolution and morphology comparable with human
120 eosinophilic myocarditis secondary to hypereosinophilic syndrome (de Oliveira *et al.*, 2021). As
121 the pigs in this study were already found death with no clinical sing, no blood analyses were made
122 to evaluated eosinophilia, but the microscopic lesions are close related to the ones seen in this case.

123 Similar cases have been reported in a horse and a dog (Luethy *et al.*, 2017; Keeshen *et al.*,
124 2016). The histopathology evaluation on the horse case had shown an eosinophilic myocarditis,
125 after a sudden death with no etiologic agent related (Luethy *et al.*, 2017), verry similar to the cases
126 reported in this work. As for the dog, an echocardiography revealed marked hypertrophy of the left
127 and right ventricles and equivocal systolic dysfunction, which leads to a chronic heart disfunction,
128 not as recent as the ones observed in the pigs. Post-mortem examination revealed severe, chronic
129 atrial and ventricular eosinophilic myocarditis associated with marked interstitial fibrosis. The
130 authors suggested an eosinophilic myocarditis multi-organ eosinophilic inflammation (Keeshen *et*
131 *al.*, 2016). These multi-organs eosinophilic inflammation was not observed on the pigs from this
132 report, which can be duel to less chronic condition. Above all, the macroscopic and histopathologic
133 presentation shown in those articles are very similar to the lesions we evidenced, which
134 corroborates with our suggestion of eosinophilic myocarditis as the cause of the sudden death of
135 the pigs reported in this study.

136 Interesting, these three eosinophilic myocarditis cases reported in veterinary medicine are
137 from older animals, while the pigs from this report are relatively young. However, in human
138 medicine, the hypereosinophilic syndrome is mainly reported in young people, between 20 and 50
139 years of age (Ginsberg & Parrillo, 2005). Also in human medicine, there are cases with an
140 eosinophilic myocarditis accompanied by giant cell infiltration (Hyogo *et al.*, 1997; Sugiyama *et*
141 *al.*, 2015). The same giant cell infiltration has been seen in the pigs from this report, which endorse
142 the eosinophilic myocarditis idiopathic hypotheses.

143 In humans, there are several drugs associated with eosinophilic myocarditis (Baandrup,
144 2012). Both farms from this report have the same antibiotic protocol. The animals received
145 florfenicol on weeks one, four, eight, 12, and 15 on feed and amoxicillin in water during the first
146 week of the finishing phase. Those drugs were not listed as a risk in human medicine (Baandrup,

147 2012), but the possibility of antibiotics widely used in pig farming, such as ampicillin, penicillin,
148 tetracycline, lead to a hypersensitivity reaction as the trigger of the eosinophilic disorder should be
149 consider.

150 Eosinophilic inflammatory reactions are commonly observed in veterinary medicine in
151 cases of mast cell tumors in dogs and feline eosinophilic granuloma complex (London & Seguin,
152 2003; Buckley & Nuttall, 2012). As seen in those conditions, eosinophil recruitment often leads to
153 eosinophilic collagen degranulation, and occasional multinucleated giant cell formation.
154 Eosinophilic collagen degranulation accompanied by formation and multinucleated giant cells was
155 also observed in the pigs from this report, which corroborates that this is a primarily eosinophilic
156 condition. Eosinophilic granulocytic sarcoma had been reported in pigs, but it diverts because they
157 had green masses and metastases observed in several regions (Brum *et al.*, 2012), once the pigs of
158 our report had mainly eosinophilic infiltration in the heart.

159 The lack of pathogens agents and the similarity with previously reported cases lead to the
160 conclusion that the two pigs from this report had an unusual eosinophilic myocarditis compared to
161 the ones described in humans. Even though this condition has been well described in human
162 medicine over the decades, there are very few reports in veterinary. To the best of the authors'
163 knowledge, this is the first report of eosinophilic and granulomatous myocarditis in pigs.

REFERENCES

- Antoniassi NA, Juffo GD, Santos AS, Pescador CA, Corbellini LG *et al.* (2012). Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **33**, 155-160.
- Baandrup U (2012) Eosinophilic myocarditis. *Herz*, **37**, 849-853.
- Brum JS, Lucena RB, Martins TB, Figuera RA, Barros CS (2012). Eosinophilic granulocytic sarcoma in a pig. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **24**, 807-811.
- Buckley L, Nuttall T (2012). Feline eosinophilic granuloma complex (ities) some clinical clarification. *Journal of feline medicine and surgery*, **14**, 471-481.
- Chauhan RP, Kumari A, Nehra AK, Ram H, Garg R *et al* (2020). Genetic characterization and phylogenetic analysis of *Sarcocystis suis* infecting domestic pigs (*Sus scrofa*) in India. *Parasitology Research*, **119**, 3347-3357.
- Day MJ, Schultz RD (2011). *Veterinary Immunology Principles and Practice*. London, UK: Manson Publishing.
- De Conti ER, Resende TP, Marshall-Lund L, Rovira A, Vannucci FA (2021). Histological Lesions and Replication Sites of PCV3 in Naturally Infected Pigs. *Animals*, **11**, 1520.
- de Oliveira AR, Santos DO, Paula NF, Oliveira JBS, Santana CH *et al* (2021). Acute necrotizing and eosinophilic myocarditis in a chimpanzee (*Pan troglodytes*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **52**, 853-857.
- Ginsberg F, Parrillo JE (2005) Eosinophilic myocarditis. *Heart Failure Clinics*, **1**, 419-429.
- Hyogo M, Kamitani T, Oguni A, Kawasaki S, Miyanaga H *et al* (1997) Acute necrotizing eosinophilic myocarditis with giant cell infiltration after remission of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Internal Medicine*, **36**, 894-897.
- Keeshen TP, Chalkley M, Stauthammer C (2016). A case of an unexplained eosinophilic myocarditis in a dog. *Journal of Veterinary Cardiology*, **18**, 278-283.
- Li X, Qiao M, Sun M, Tian K (2018). A duplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of Porcine Circovirus 2 and 3. *Virologica Sinica*, **33**, 181-186.
- Lilliehöök I, Tvedten H (2003). Investigation of hypereosinophilia and potential treatments. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, **33**, 1359-1378.
- London CA, Seguin B (2003). Mast cell tumors in the dog. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, **33**, 473-489.
- Luethy D, Slack J, Kraus MS, Gelzer AR, Habecker P *et al* (2017). Third-Degree atrioventricular block and collapse associated with eosinophilic myocarditis in a horse. *Journal Of Veterinary Internal Medicine*, **31**, 884-889.

- Opriessnig T, Janke BH, Halbur PG (2006). Cardiovascular lesions in pigs naturally or experimentally infected with Porcine Circovirus type 2. *Journal of Comparative Pathology*, **134**, 105-110.
- Pang VF, Adams JH, Beasley VR, Buck WB, Haschek WM (1986). Myocardial and pancreatic lesions induced by T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin, in swine. *Veterinary Pathology*, **23**, 310-319.
- Pereira PR, Caprioli RA, Hammerschmitt ME, Sonne L, Pavarini SP *et al* (2018). Lesões intestinais em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **38**, 823-831.
- Quinn P. J., Markey B. K., Leonard F. C., Fitzpatrick E. S., Fanning S. *et al* (2011). *Pasteurella* species, *Mannheimia haemolytica* and *Bibersteinia trehalosi*, In: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2nd Edit. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Fitzpatrick ES, Fanning S, Hartigen PJ, Eds, Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, p. 300-308.
- Sugiyama E, Takenaka T, Kato M, Minoshima A, Muto H *et al* (2015.) Eosinophilic myocarditis without hypereosinophilia accompanied by giant cell infiltration. *Journal of Cardiology Cases*, **12**, 169-171.
- Wang Y, Feng Y, Zheng W, Noll L, Porter E *et al* (2019). A multiplex real-time PCR assay for the detection and differentiation of the newly emerged Porcine Circovirus type 3 and continuously evolving type 2 strains in the United States. *Journal of Virological Methods*, **269**, 7-12.

4 CONCLUSÃO

Diversas são as possíveis causas de miocardites eosinofílicas. Em medicina humana, tal enfermidade é bem documentada em causas não infecciosas relacionada hipersensibilidade a fármacos, doenças imunomediadas e síndrome hipereosinofílica idiopática. Em medicina veterinária, raros são os relatos de miocardite eosinofílica de causa não infecciosa. Nesse trabalho, apresentamos dois casos de suínos que morreram subitamente cuja principal lesão era miocardite eosinofílica e granulomatosa. Apesar de diversos exames laboratoriais terem sido realizados, nenhum agente etiológico foi identificado. No conhecimento dos autores, esse é o primeiro relato de miocardite eosinofílica e granulomatosa em suínos não relacionada a causas infecciosas.

REFERÊNCIAS

- AL ALI, A. M. et al. Eosinophilic myocarditis: Case series and review of literature. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 22, n. 14, p. 1233–1237, dez. 2006.
- ALEXANDERSEN, S. et al. The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. **Journal of comparative pathology**, v. 129, n. 1, p. 1–36, 2003.
- ARÁOZ, V. et al. Fatal Sarcocystis cruzi–induced eosinophilic myocarditis in a heifer in Uruguay. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, n. 4, p. 656–660, 1 jul. 2019.
- BAANDRUP, U. Eosinophilic myocarditis. **Herz**, v. 37, n. 8, p. 849–853, dez. 2012.
- BASSO, W. et al. Involvement of Toxoplasma gondii in reproductive disorders in Swiss pig farms. **Parasitology International**, v. 64, n. 2, p. 157–160, abr. 2015.
- BEZERRA, R. A. et al. Comparison of methods for detection of Toxoplasma gondii in tissues of naturally exposed pigs. **Parasitology Research**, v. 110, n. 2, p. 509–514, fev. 2012.
- BILLINIS, C. et al. Effect of challenge dose and age in experimental infection of pigs with encephalomyocarditis virus. **Veterinary Microbiology**, v. 99, n. 3, p. 187–195, 19 abr. 2004.
- BREWER, L. A. et al. Porcine encephalomyocarditis virus persists in pig myocardium and infects human myocardial cells. **Journal of Virology**, v. 75, n. 23, p. 11621–11629, 2001.
- BRITO-BABAPULLE, F. The eosinophilias, including the idiopathic hypereosinophilic syndrome: *Review*. **British Journal of Haematology**, v. 121, n. 2, p. 203–223, abr. 2003.
- BRUM, J. S. et al. Eosinophilic granulocytic sarcoma in a pig. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 4, p. 807–811, 1 jul. 2012.
- BRUNNING, R. et al. Myelodysplastic syndromes, acute myeloid leukaemias. In: **Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. World Health Organization Classification of Tumours**. [s.l.] IARC Press, Lyon, 2001. p. 61–107.
- BURKE, A. P. et al. Hypersensitivity myocarditis. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 115, n. 8, p. 764–769, 1991.

- CARPENTER, J. A. Tiamulin and narasin toxicosis in nursery pigs. **Journal of Swine Health and Production**, v. 13, n. 6, p. 333–336, 1 nov. 2005.
- COELHO, C. F. et al. Pericardite em suínos ao abate no Rio Grande Sul: avaliação de agentes bacterianos e lesões associadas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 7, p. 643–648, jul. 2014.
- COLLINS, D. E.; EATON, K. A.; HOENERHOFF, M. J. Spontaneous Dilated Cardiomyopathy and Right-Sided Heart Failure as a Differential Diagnosis for Hepatosis Dietetica in a Production Pig. **Comparative Medicine**, v. 65, n. 4, p. 6, 2015.
- COURAND, P.-Y. et al. Churg–Strauss syndrome presenting with acute myocarditis and cardiogenic shock. **Heart, Lung and Circulation**, v. 21, n. 3, p. 178–181, 2012.
- CRUZ, R. A. S. et al. Outbreaks of nutritional cardiomyopathy in pigs in Brazil. p. 7, 2019.
- DAY, M. J.; SCHULTZ, R. D. **Veterinary immunology: principles and practice**. [s.l.] CRC Press, 2019.
- DE CONTI, E. R. et al. Histological Lesions and Replication Sites of PCV3 in Naturally Infected Pigs. **Animals**, v. 11, n. 6, p. 1520, 24 maio 2021.
- DE OLIVEIRA, A. R. et al. ACUTE NECROTIZING AND EOSINOPHILIC MYOCARDITIS IN A CHIMPANZEE (PAN TROGLODYTES). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 52, n. 2, 11 jun. 2021.
- DORNE, J. L. C. M. et al. Risk assessment of coccidostatics during feed cross-contamination: Animal and human health aspects. **Toxicology and Applied Pharmacology**, Risk assessment of undesirable substances in feed. v. 270, n. 3, p. 196–208, 1 ago. 2013.
- DYAB, A.; AHMED, M.; GAREH, A. PREVALENCE AND HISTOPATHOLOGY OF TRICHINELLA SPIRALIS LARVAE OF SLAUGHTERED PIGS IN CAIRO GOVERNORATE, EGYPT. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. Vol.49, p. 439–442, 1 ago. 2019.
- ENSLEY, S. M.; RADKE, S. L. Toxic minerals, chemicals, plants, and gases. **Diseases of swine**, p. 1072–1087, 2019.
- FENOGLIO JR, J. J.; MCALLISTER JR, H. A.; MULLICK, F. G. Drug related myocarditis: I. hypersensitivity myocarditis. **Human pathology**, v. 12, n. 10, p. 900–907, 1981.

- FRENCH, A. J.; WELLER, C. V. Interstitial Myocarditis Following the Clinical and Experimental Use of Sulfonamide Drugs. **The American Journal of Pathology**, v. 18, n. 1, p. 109–121, jan. 1942.
- GANTER, M.; KIECKHOFER, H. M.; KUCZA, A. Intoxicação aguda por salinomicina/tiamulin em suínos. **Hora Vet., Porto Alegre**, v. 15, n. 85, p. 12–16, 1995.
- GELMETTI, D. et al. Pathogenesis of encephalomyocarditis experimental infection in young piglets: a potential animal model to study viral myocarditis. **Veterinary research**, v. 37, n. 1, p. 15–23, 2006.
- GINSBERG, F.; PARRILLO, J. E. Eosinophilic Myocarditis. **Heart Failure Clinics**, v. 1, n. 3, p. 419–429, out. 2005.
- HOLYOAKE, P. et al. The occurrence of congenital heart defects in an inbred herd of pigs in Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 84, n. 4, p. 129–133, 2006.
- HSU, F. S.; DU, S. J. Congenital Heart Diseases in Swine. p. 11, 1982.
- HUANG, Z. et al. Morphological and molecular characterizations of *Sarcocystis miescheriana* and *Sarcocystis suis hominis* in domestic pigs (*Sus scrofa*) in China. **Parasitology Research**, v. 118, n. 12, p. 3491–3496, dez. 2019.
- KAZAMA, R. et al. **Therapeutic role of pericardiocentesis for acute necrotizing eosinophilic myocarditis with cardiac tamponade**. Mayo Clinic Proceedings. **Anais...Elsevier**, 2003.
- KEESHEN, T. P.; CHALKLEY, M.; STAUTHAMMER, C. A case of an unexplained eosinophilic myocarditis in a dog. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 18, n. 3, p. 278–283, set. 2016.
- KOENEN, F. et al. Reproductive failure in sows following experimental infection with a Belgian EMCV isolate. **Veterinary microbiology**, v. 39, n. 1–2, p. 111–116, 1994.
- LEONE, O. et al. The spectrum of myocarditis: from pathology to the clinics. **Virchows Archiv**, v. 475, n. 3, p. 279–301, set. 2019.
- LILLIEHÖÖK, I.; TVEDTEN, H. Investigation of hypereosinophilia and potential treatments. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 33, n. 6, p. 1359–1378, 2003.
- LUETHY, D. et al. Third-Degree Atrioventricular Block and Collapse Associated with

- Eosinophilic Myocarditis in a Horse. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 3, p. 884–889, maio 2017.
- MILLER, L. M.; GAL, A. Cardiovascular System and Lymphatic Vessels. **Pathologic Basis of Veterinary Disease**, p. 561- 616.e1, 2017.
- NIELSEN, T. K. et al. Mulberry heart disease in young pigs without vitamin E and selenium deficiency. **The Veterinary record**, v. 124, n. 20, p. 535–537, 1 maio 1989.
- NOVILLA, M. N. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. **Veterinary and human toxicology**, v. 34, n. 1, p. 66–70, 1 fev. 1992.
- OPRIESSNIG, T.; JANKE, B. H.; HALBUR, P. G. Cardiovascular Lesions in Pigs Naturally or Experimentally Infected with Porcine Circovirus Type 2. **Journal of Comparative Pathology**, v. 134, n. 1, p. 105–110, jan. 2006.
- OROPEZA-MOE, M. et al. A descriptive report of the selenium distribution in tissues from pigs with mulberry heart disease (MHD). **Porcine Health Management**, v. 5, n. 1, p. 17, dez. 2019.
- PALLARÉS, F. J. et al. Vitamin E and Selenium Concentrations in Livers of Pigs Diagnosed with Mulberry Heart Disease. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 14, n. 5, p. 412–414, 1 set. 2002.
- PHAN, T. G. et al. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. **Virology Journal**, v. 13, n. 1, p. 184, dez. 2016.
- PIVA, M. M. et al. Causes of death in growing-finishing pigs in two technified farms in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 758–775, out. 2020.
- ROBINSON, N. A.; LOYNACHAN, A. T. Cardiovascular and hematopoietic systems. **Diseases of Swine**, p. 221–233, 2019.
- SALSBURY, D. L. An anatomic defect as the cause of neonatal death in pigs. **Veterinary Medicine and Small Animal Clinic**, v. 65, p. 479–481, 1970.
- SANFORD, S. E.; MCNAUGHTON, C. Ontario. Ionophore (maduramicin) toxicity in pigs. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 32, n. 9, p. 567, set. 1991.
- SAVIC, B. et al. Distribution and aetiology of valvular endocarditis in suckling and weaned piglets

in Serbia. **Veterinárni Medicína**, v. 65, n. No. 11, p. 480–486, 26 nov. 2020.

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

SHEN, H. et al. Vitamin E and Selenium Levels are Within Normal Range in Pigs Diagnosed with Mulberry Heart Disease and Evidence for Viral Involvement in the Syndrome is Lacking. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 58, n. 6, p. 483–491, 2011.

SHIBAZAKI, S. et al. Eosinophilic Myocarditis due to Toxocariasis: Not a Rare Cause. **Case Reports in Cardiology**, v. 2016, p. 2586292, 31 mar. 2016.

SHIMSHONI, J. A. et al. Acute maduramicin toxicosis in pregnant gilts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 68, p. 283–289, jun. 2014.

SMITH, W.; HALLS, S. THE PRODUCTION OF OEDEMA DISEASE AND DIARRHOEA IN WEANED PIGS BY THE ORAL ADMINISTRATION OF ESCHERICHIA COLI: FACTORS THAT INFLUENCE THE COURSE OF THE EXPERIMENTAL DISEASE. p. 16, 1967.

SOMMERFELT, I. E. et al. *Toxocara canis* in experimentally infected pigs: migratory pattern and tissue lesions. **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3–4, p. 323–334, nov. 2004.

SOUZA, E. DE O.; SPOSITO, P. H.; MERLINI, L. S. Search for *Trichinella spiralis* in swine slaughtered in the northwestern state of Parana, Brazil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 7, n. 2, p. 225–232, 2013.

STENFELDT, C. et al. The Pathogenesis of Foot-and-Mouth Disease in Pigs. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 3, p. 41, 2016.

TEMEEYASEN, G. et al. Pathogenicity and immune response against porcine circovirus type 3 infection in caesarean-derived, colostrum-deprived pigs. **Journal of General Virology**, v. 102, n. 1, p. 001502, 2021.

VANSTEENKISTE, K. et al. Clinical problems due to encephalomyocarditis virus infections in two pig herds. **Porcine Health Management**, v. 2, n. 1, p. 19, dez. 2016.

WANG, F. I. **Pathological study on cardiac diseases in swine**. PhD Thesis—[s.l.] MS thesis.

National Taiwan University, Taipei, Taiwan, 1978,(quoted by Hsu ..., 1978.