

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

SALMONELOSE EM EQUINOS NO RIO GRANDE DO SUL.

GREGORY DUARTE JUFFO

PORTO ALEGRE  
2013

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

SALMONELOSE EM EQUINOS NO RIO GRANDE DO SUL.

GREGORY DUARTE JUFFO

**Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração em Cirurgia, Morfologia e Patologia Animal, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.**

Orientador: David Driemeier

PORTO ALEGRE  
2013

#### CIP - Catalogação na Publicação

Duarte Juffo, Gregory  
Salmonelose em equinos no Rio Grande do Sul /  
Gregory Duarte Juffo. -- 2013.  
67 f.

Orientador: David Driemeier Driemeier.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,  
Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Salmonelose em equinos. 2. Doenças entéricas em  
equinos. 3. Doenças bacterianas infecciosas em  
equinos. 4. Salmonella Muenster. I. Driemeier, David  
Driemeier, orient. II. Título.

Gregory Duarte Juffo

SALMONELOSE EM EQUINOS NO RIO GRANDE DO SUL.

Aprovado em ...

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. David Driemeier  
Orientador e presidente da comissão

---

Prof. Dr. Ana Lucia Schild (UFPeI)  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Aldo Gava (UFMS)  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Luciana Sonne (UFRGS)  
Membro da Comissão

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho as pessoas que tanto se dedicaram a me ensinar, apoiar, incentivar e vibraram com minhas conquistas.

Aos meus pais Everton e Claudia e minha tia Rosaura. Por vocês cheguei até aqui e, por vocês, seguirei em frente.

As minhas irmãs Débora e Bianca e ao meu sobrinho-afilhado Arthur.

E as pessoas que compartilharam comigo os melhores e os piores momentos dessa jornada.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus avôs por tudo que representaram na formação de pessoas íntegras e de princípios que são a minha referencia. A minha mãe, Claudia, por toda a entrega e amor que teve aos filhos e ao meu pai, Everton, pessoa que tenho maior admiração, pelos exemplos e ensinamentos. Juntamente com minha segunda mãe, tia Rosaura, estiveram sempre no meu lado me apoiando, incentivando. Não há adjetivos para dimensionar a gratidão e orgulho que tenho. Agradeço cada dia por ser filho de vocês. Amo muito.

As minhas irmãs, Débora e Bianca, quero agradecer pela convivência, pelo companheirismo, amizade, amor. Em especial ao meu afilhado Arthur que neste último ano renovou laços de união, fraternidade e de amor nessa família. Agradeço minha família, e aos meus amigos, pois cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só, porque deixa um pouco de si e leva um pouco de nós. Com eles aprendi valores e levo exemplos que carregarei comigo sempre. Muito obrigado!

Ao meu orientador David Driemeier, agradeço a oportunidade, os ensinamentos, por confiar no meu trabalho e pelo exemplo de dedicação e humildade.

Aos meus colegas do Setor de Patologia Veterinária Flademir, Paulo, Juliano, André, Luiz, Eduardo, Priscila, Angélica, Fabiana, Paula, Verônica, Marcele, Gabriel, Gisele, Lorena, Suyene, Gabriela, Neusa, Felipe, Matheus, Édio, Vanessa, Amanda, Cristine, muito obrigado pelo companheirismo e conhecimentos compartilhado.

Em especial gostaria de agradecer aos meus colegas Danilo, Daniele e Fabiana Wurster e ao Saulo pela cumplicidade e pela ajuda na elaboração desse trabalho. Assim como a Nadia Antoniassi por sempre me incentivarem.

Agradeço as funcionárias da patologia, Bárbara e Cíntia pela amizade e ajuda na confecção das lâminas.

Aos professores, Saulo Pavarini, Luciana Sonne, Claudio Cruz pela amizade e disposição em ajudar e agregar ensinamento nessa etapa da minha formação.

Obrigado!

## RESUMO

Salmonelose é uma importante enfermidade entérica em equinos de todas as idades, e em potros também nos casos de septicemia. Esse trabalho descreve a epidemiologia, sinais clínicos, achados patológicos e os sorovares associados em 10 casos de equinos necropsiados, quatro potros e seis adultos, com diagnóstico de salmonelose no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) entre 2003 e 2012. Os principais sinais clínicos observados foram diarreia, anorexia e hipertermia. As lesões observadas localizavam-se principalmente no cólon maior e ceco e eram caracterizadas por conteúdo líquido em grande quantidade, hemorragias, com mucosas edemaciadas e ulceradas, por vezes recobertas por material friável amarelado e aderido. Em três casos tais lesões foram visualizadas também no intestino delgado. Os achados microscópicos caracterizavam-se por infiltrado predominante neutrofílico, associado com necrose de mucosa, por vezes com deposição de fibrina formando uma pseudomembrana, necrose dos centros linfoides e alterações vasculares como edema e trombose. Os tecidos foram marcados nos dez casos pela técnica de imuno-histoquímica (IHQ) utilizando anticorpo policlonal anti-salmonella na diluição de 1:1000. Dos sete isolados cinco foram sorotipificados e os sorovares Typhimurium, Anatum, estiveram associados em dois casos cada enquanto Muenster esteve em um. O diagnóstico foi baseado no isolamento bacteriano e/ou teste de (IHQ) associado às lesões. O método de IHQ auxiliou na identificação do antígeno bacteriano e foi importante como diagnóstico complementar de salmonelose.

## ABSTRACT

Salmonellosis is an important enteric disease in horses of all ages, and in foals is also important in cases of septicemia. This paper describes the main pathological, epidemiologic and clinical findings, and associated serovars in 10 cases of horses necropsied; four foals and six adults diagnosed with salmonellosis by the Setor de Patologia Veterinária, from Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) between 2003 and 2012. The main clinical signs observed were diarrhea, anorexia and hyperthermia. These lesions were mainly located in the colon and cecum and were characterized by a large content of liquid, hemorrhagic areas, with swollen and ulcerated mucosa, sometimes covered with yellowish friable material adhered. In three cases, these lesions were also observed in the small intestine. The microscopic findings were characterized predominantly by neutrophils infiltration, associated with mucosal necrosis, sometimes with fibrin deposition forming a pseudomembrane, and lymphoid follicle necrosis centers, oedema and vascular thrombosis. The diagnosis was based on bacteriological isolation, of seven cases, and / or immunohistochemical test positive, of ten cases, associated with lesions. The tissues were labelled by immunohistochemistry (IHC) using polyclonal antibody at a dilution of 1:1000. Five out of seven bacteriological isolation were serotyped and the serovars Typhimurium and Anatum, were associated in two cases each, and Muenster in one case. The IHC method helped in the identification of bacterial antigen and was important as complementary diagnosis of salmonellosis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

- Figura 1** – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso, serosa hiperêmica com área de hemorragia segmentar extensa na alça dorsal do cólon maior. .... 32
- Figura 2** – Salmonelose. Equino 6. Intestino grosso, áreas segmentares na serosa de diferentes extensões com coloração vermelho escura no cólon maior. .... 32
- Figura 3** – Salmonelose. Equino 5. Intestino grosso (colón maior e ceco) com acentuado espessamento da mucosa. .... 33
- Figura 4** – Salmonelose. Equino 9. Intestino grosso (colón maior e ceco) intenso edema com áreas multifocais vermelho escuras com ulceração da mucosa. .... 33
- Figura 5** – Salmonelose. Equino 1. Intestino grosso (cólon maior) mucosa com superfície rugosa e aspecto finamente granular. .... 34
- Figura 6** – Salmonelose. Equino 8. Intestino grosso (cólon maior) mucosa com múltiplas úlceras amareladas bem circunscritas (úlceras botonosas). .... 34
- Figura 7** – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso (cólon maior e ceco) mucosa recoberta por pseudomembrana amarelo-acastanhado. .... 35
- Figura 8** – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso (cólon maior e ceco) detalhe da figura anterior, superfície da mucosa com múltiplas úlceras avermelhada recobertas por pseudomembrana amarelo-acastanhado. .... 35
- Figura 9** – Salmonelose. Equino 2. Intestino grosso (cólon maior) abundante conteúdo liquefeito, verde-oliva. .... 36
- Figura 10** – Salmonelose. Equino 4. Jejunó, abundante conteúdo líquido marrom-avermelhado com grande quantidade de fibrina solta na luz e aderido a mucosa. .... 37
- Figura 11** – Salmonelose. Equino 5. Jejunó, deposição de fibrina amarelada na mucosa formando uma pseudomembrana. Observe ainda intensa hiperemia da mucosa. .... 37
- Figura 12** – Salmonelose. Equino 7. Intestino delgado, deposição de fibrina de coloração vermelho escura sobre placas de Peyer. .... 38
- Figura 13** – Salmonelose. Equino 6. Adrenal, Intensa hemorragia do córtex “adrenal de choque”. .... 39
- Figura 14** – Salmonelose. Equino 7. Rim, superfície capsular com múltiplos pontos vermelhos variando de 0,2 a 0,5 cm de diâmetro. .... 39
- Figura 15** – Salmonelose. Equino 9. Intestino grosso (cólon maior) necrose e hiperemia difusa acentuada da mucosa com múltiplos trombos na submucosa, além de infiltrado predominantemente neutrofílico. Hematoxilina eosina. .... 41
- Figura 16** – Salmonelose. Equino 1. Intestino Grosso (cólon maior) necrose de criptas, algumas criptas preenchidas por debris celulares, além de infiltrado predominantemente neutrofílico. Hematoxilina eosina. .... 41
- Figura 17** – Salmonelose. Equino 9. Intestino grosso (cólon maior) necrose tras mural com trombos de fibrina em vasos da lâmina própria da mucosa e na submucosa, com infiltrado predominantemente composto por neutrófilos. Hematoxilina eosina. .... 42

<b>Figura 18</b> – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso (cólon maior) pseudomembrana diftérica, composta por abundante fibrina, debris celulares, intenso infiltrado de células inflamatórias com predomínio de neutrófilos e miríades bacterianas associado a necrose da mucosa, difusa. Observa-se ainda intensa trombose. Hematoxilina eosina. ....	42
<b>Figura 19</b> – Salmonelose. Equino 5. Intestino delgado, pseudomembrana diftérica, composta por abundante fibrina, debris celulares, neutrófilos degenerados e miríades bacterianas associado a necrose da mucosa, difusa. Hematoxilina eosina. ....	43
<b>Figura 20</b> – Salmonelose. Equino 2. Intestino grosso, necrose de tecido linfóide na submucosa. Hematoxilina eosina. ....	43
<b>Figura 21</b> – Salmonelose. Equino 6. Intestino grosso, dilatação de vasos linfáticos na submucosa acompanhada de leucocitoestase, predominantemente de neutrófilo. Hematoxilina eosina. ....	44
<b>Figura 22</b> – Salmonelose. Equino 10. Fígado infiltrado inflamatório de neutrófilos associadas a área de necrose “Nódulos paratífoides”. Hematoxilina eosina. ....	46
<b>Figura 23</b> – Salmonelose. Equino 7. Rim, glomérulo com microtrombos e hemorragia. Necrose tubular com hemorragia multifocal e material eosinofílico amorfo de aspecto finamente granular nos túbulos. Hematoxilina eosina. ....	47
<b>Figura 24</b> – Salmonelose. Equino 9. Baço, necrose de tecido linfóide em polpa branca. Hematoxilina eosina. ....	47
<b>Figura 25</b> – Salmonelose. Equino 1. Intestino Grosso. Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti- <i>Salmonella</i> demonstrando antígenos bacterianos na mucosa. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC. ....	49
<b>Figura 26</b> – Salmonelose. Equino 1. Intestino delgado. Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti- <i>Salmonella</i> demonstrando antígenos bacterianos em macrófagos da na lâmina própria do ápice das vilosidades. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC. ....	49
<b>Figura 27</b> – Salmonelose. Equino 10. Linfonodo. Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti- <i>Salmonella</i> demonstrando antígenos bacterianos. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC. ....	50
<b>Figura 28</b> – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso. Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti- <i>Salmonella</i> demonstrando antígenos bacterianos difusamente na mucosa e submucosa. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC. ....	50
<b>Figura 29</b> – Salmonelose. Equino 1. Intestino grosso Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti- <i>Salmonella</i> demonstrando antígenos bacterianos no interior das criptas necróticas. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC. ....	51

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Identificação, histórico e sinais clínicos dos equinos diagnosticados com Salmonelose no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, durante o período de 2003-2012.....	29
<b>Tabela 2</b> – Alterações macroscópicas de intestino (delgado e grosso), dos equinos diagnosticados com Salmonelose no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, durante o período de 2003-2012. ....	31
<b>Tabela 3</b> – Distribuição e intensidade das lesões histológicas no Intestino (grosso e delgado) em 10 equinos com <i>Salmonella</i> sp. no Setor Patologia Veterinária da UFRGS. ....	45
<b>Tabela 4</b> – Resultados dos exames de isolamento bacteriano e sorovares identificados nos casos de salmonelose em equinos diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS. ....	48

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRATC</b> .....	<b>8</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>11</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1 Histórico</b> .....	<b>13</b>
<b>2.2 Etiologia</b> .....	<b>13</b>
<b>2.3 Epidemiologia</b> .....	<b>15</b>
<b>2.4 Patogenia</b> .....	<b>17</b>
<b>2.5 Sinais Clínicos</b> .....	<b>19</b>
<b>2.6 Achados de necropsia e histopatologia</b> .....	<b>21</b>
<b>2.7 Diagnóstico e diagnóstico diferencial</b> .....	<b>22</b>
<b>2.8 Controle e profilaxia</b> .....	<b>23</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
<b>3.1 Seleção dos casos</b> .....	<b>25</b>
<b>3.2 Exame imuno-histoquímico</b> .....	<b>25</b>
<b>3.3 Exame microbiológico</b> .....	<b>26</b>
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>28</b>
<b>4.1 Alterações macroscópicas</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2 Alterações microscópicas</b> .....	<b>40</b>
<b>4.3 Exames complementares</b> .....	<b>48</b>
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>52</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>60</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Salmonelose, causada pelos diferentes sorovares do gênero *Salmonella* sp, é caracterizada por ser uma enfermidade contagiosa que afeta diferentes espécies de animais, com maior frequência bovinos, equinos e suínos. É considerada uma das principais zoonoses com distribuição mundial (WEESE, 2002). A principal forma de transmissão de equinos para humanos acontece através de contaminação alimentar, similar as outras espécies, porém há associação de casos de transmissão em hospitais veterinários, de pessoas em contato com animais em curso clínico da doença (BENDER; TSUKAYAMA, 2004).

Em equinos é uma importante doença infecciosa que afeta animais de todas as idades (BRYANS; FALLON; SHEPHARD, 1961; SMITH, 1981; WALKER et al., 1991). Pode ocorrer de forma esporádica, principalmente em equinos adultos, ou como surtos em animais com maior risco de contaminação ou submetidos a fatores estressantes (COLLETT; MOGG, 2004; BARROS, 2007). Fatores como cólicas, tratamento com antibióticos e anti-helmínticos, hospitalização, estresse induzido por transporte, gestação, mudança de ambiente, de dieta ou de tratador, clima quente e úmido, cirurgias, anestesia e doença concomitante aumentam a possibilidade do desencadeamento do quadro clínico (MORSE et al., 1976; SMITH; REINA-GUERRA; HARDY, 1978; GIBBONS, 1980; CARTER et al., 1986; HIRD et al., 1986; FEARY; HASSEL, 2006). A morbidade e mortalidade dependem da idade do hospedeiro, de fatores predisponentes, assim como do sorovar envolvido (WENKOFF, 1973), em casos de surtos podem ser altas e o tratamento tem limitado sucesso (GIBBONS, 1980). A possível infecção nosocomial de *Salmonella* sp. em clínicas de equinos e hospitais exige medidas de profilaxia e controle adequado (COLLETT; MOGG, 2004; DWYER, 2004).

A manifestação clínica típica é relacionada com problemas entéricos, entretanto conforme idade do animal, poderá existir algumas particularidades. Em potros a doença quase sempre está associada aos casos hiperagudos de septicemia e enterotiflolocolite aguda, cujos sinais clínicos normalmente observados são febre, diarreia, depressão e choque hipovolêmico (WEMKOFF, 1973; WHITLOCK, 1986; BROWN; BAKER; BARKER, 2007). Outras infecções localizadas como uveítes, sinovite, osteomielite, meningoencefalites também podem acontecer (ROBERTS; O'BOYLE, 1981;

PATTERSON-KANE, et al., 2001; MAGDESIAN, 2005). Em adultos é mais associada a problema entérico agudo ou crônico com diarreia intermitente (SMITH, 1979; GIBBONS, 1980; SMITH, 1981). Entretanto, outras apresentações já foram relatadas, como aborto (MADIĆ et al., 1997) e quadro clínico de febre, anorexia, e depressão severa, sem comprometimento entérico (SMITH, 1979).

Como complicações decorrentes da tiflocolite pode haver choque séptico, laminite, tromboflebite, coagulopatia, insuficiência renal aguda, má absorção intestinal crônica. Animais assintomáticos ou que sobrevivem a uma infecção representam um importante fator epidemiológico na disseminação da infecção (SMITH et al., 1979; GIBBONS, 1980; SMITH, 1981; COHEN, 1999). Na maioria dos casos o diagnóstico é confirmado com isolamento bacteriano das fezes ou de tecidos durante a necropsia (GIBBONS, 1980).

Surtos de salmonelose em equinos são esporadicamente descritos no Brasi. É possível que esta enfermidade seja subdiagnosticada e/ou subrelatada (MORSE et al., 1976). Este trabalho descreve casos de salmonelose em equinos no Estado do Rio Grande do Sul ressaltando os achados epidemiológicos, alterações clínico-patológicas, os sorovares associados aos casos, além de demonstrar a presença de *Salmonella* sp. através da técnica de imuno-histoquímica nos tecidos dos animais infectados.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico

A salmonelose em equinos ocorre em todo mundo e inicialmente, foi relacionada a casos de aborto nos Estados Unidos da América (EUA), sendo o sorovar isolado desses casos identificado como *Salmonella* Abortus equi (KILBORNE, 1893 apud HOUSE; SMITH, 2000). Diversos trabalhos nos EUA, na primeira metade do século XX relacionaram esse sorovar aos casos de aborto, entretanto, a incidência após 1950 teve acentuada queda até praticamente ser extinta no país (TAYLOR et al., 1965 apud GIBBONS, 1980). Na Europa, até o final da década de oitenta, houve relatos de casos de abortos, que ocorriam no terço médio de gestação, associados à infecção por *Salmoella* sp. (CONDOLEO et al., 1983; apud MADIC' et al., 1997; KUKA, 1989 apud HOUSE; SMITH, 2000).

Casos de colite associados à *Salmonella* Typhimurium foram identificados em 1919 em equinos transportados de trem entre países (GRAHAM et al., 1920 apud HOUSE; SMITH, 2000). A partir dos anos 50 houve, proporcionalmente, um considerado aumento nos casos de salmonelose, tanto nos números relativos quanto nos de isolados na Grã-bretanha e nos EUA (BRUNER; MORAN, 1949 apud GIBBONS, 1980, MORSE et al., 1976).

A partir de 1970, a forma entérica com diarreia foi considerada relevante em equinos adultos (TENNANT, 1976 apud GIBBONS, 1980). Os casos foram, majoritariamente, observados em hospitais veterinários onde se verificou que o risco de contaminação tinha grande incidência em animais debilitados ou doentes, associando nesses casos ao quadro de diarreia aguda (SMITH; REINA GUERRA; HARDY, 1978; ROBERTS; O' BOYLE, 1981).

Gibbons (1980) definiu salmonelose como uma importante doença infecciosa em equinos de todas as idades, geralmente apresentando manifestação de septicemia, de colite, de diarreia crônica, baixo crescimento e ocasionalmente aborto.

### 2.2 Etiologia

O gênero *Salmonella*, da família Enterobacteriaceae, são cocobacilos Gram-negativos, móveis, flagelados e não fermentadores de lactose e sacarose (LIBBY et al.,

1993). São anaeróbicos facultativos, indol e oxidase negativos, catalase positivo, produzem ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S), e reduzem nitrato a nitrito (QUINN et al., 2011).

Apresentam crescimento ótimo a 35-37°C e em pH 6,5-7,5. Há cepas adaptadas à variação maior de pH (4,5 a -9,5) e temperatura (2°C - 54°C), além de sobreviver ao congelamento e desidratação por longos períodos quando em presença de matéria orgânica (RADOSTITS et al., 2007). São adaptadas aos diferentes hospedeiros naturais e os equinos são altamente susceptíveis à infecção (HOUSE; SMITH, 2000).

O gênero contém duas espécies, *S. enterica* e *S. bongori* (BRENNER et al., 2000). *S. enterica* é dividida em seis sub-espécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtena* e *indica*). Além disso, já foram identificados aproximadamente 2.557 sorotipos de *S. enterica* e 22 de *S. bongori* (GRIMONT; WEILL 2007), baseada no sistema de identificação de antígenos somático (O), flagelar (H) e, ocasionalmente, o capsular (Vi) criada por Kauffmann e White (QUINN et al., 2011). Os nomes dos sorotipos são grafados como se fossem espécies, como por exemplo, *S. thyphimurium*, contudo a nomenclatura correta é *S. enterica* subsp *Enterica* var. Typhimurium (COLLETT; MOGG, 2004).

Os mecanismos biológicos e genéticos das cepas explicam a diversidade fenotípica do gênero *Salmonella*. Quanto à variação genética ou polimorfismos existe dois loci que são de grande importância: (a) Codifica os genes estruturais superficiais da bactéria como os lipopolissacarídeos (LPS), flagelos e fímbrias; e o loci (b) onde ficam os genes que codificam os fatores de virulência (FIERER; GUINEY, 2001).

As Ilhas de Patogenicidade das *Salmonella* (SPI) são regiões distribuídas nos cromossomos onde se agrupam a maioria dos genes de virulência. Atualmente são conhecidas doze ilhas de patogenicidade (SPI-1/10) além da “*Salmonella* Genomic Island 1”(SGI-1) e da “High Pathogenicity Island” (HPI). Algumas SPI são conservadas ao longo de todo o gênero *Salmonella*, enquanto outras são específicas para determinados sorovares (ALTIER, 2005).

O lipopolissacarídeo (LPS), componente da parede celular, é formado pela cadeia lateral (antígeno somático O) e pela porção central (lipídio A). Atualmente, são conhecidos 67 diferentes antígenos (números árabes 1-67) que podem ocorrer isoladamente ou em combinações (PARKER, 1983; GRIMONT; WEILL, 2007). Algumas cepas mutantes podem apresentar defeitos na síntese da cadeia lateral do antígeno O e são chamadas de cepas “ásperas”, pois não aglutinam com anti-soro-O (PARKER, 1983). Essas cepas apresentam menor capacidade de invasão nas células

hospedeiras e, quando invadem, tem maior susceptibilidade a fagocitose e lise pelo sistema de defesa do hospedeiro (COETZER; TUSTIN, 2004).

O flagelo presente em todos os sorovares, com exceção dos sorotipos Gallinarum e Pullorum (LIBBY et al., 1993), apresenta como parte integrante os antígenos H, que são termo-lábeis e apresentam duas formas (fases) que podem ocorrer em cultura. Portanto, o sorovar pode conter células em que os flagelos são todos na mesma fase ou de ambas, sendo que a maioria dos sorotipos contém flagelos de duas fases. A nomenclatura é a combinação de letras com números arábicos (GRIMONT; WEILL, 2007).

Fímbrias são responsáveis pela adesão da bactéria aos enterócitos, processo importante para iniciar a colonização. Existe especificidade nesta ligação, pois são estruturas especializadas na superfície celular da bactéria que reconhecem os receptores das células hospedeiras (WALKER, et al., 1995; DARWIN; MILLER, 1999). *Salmonella* sp. possui fímbria do tipo I, assim como a maioria das bactérias Gram negativas (QUINN et al., 2011), contudo, há diferença na expressão das várias fímbrias das *Salmonella* sp, isso ocorre devido a grande variedade de superfícies encontradas pelas cepas, além do sistema imune interferir e selecionar padrões diferentes (FIERER; GUINEY, 2001).

A determinação antigênica de qualquer sorovar de *Salmonella* sp, requer o conhecimento de ambas as fases do antígeno H dos flagelos, assim como do antígeno Somático O (GRIMONT; WEILL, 2007). Isso é realizado por testes de aglutinação entre suspensão da bactéria investigada nos anti-soros produzidos em coelhos, contra antígeno O e H e o resultado é comparado então com as fórmulas antigênicas conhecidas contidas no esquema de Kauffmann-White. Este esquema sofre atualização anualmente, devido ao surgimento de novos sorotipos (GRIMONT; WEILL, 2007).

Os plasmídeos ou fagos são mecanismos que facilitam e modulam a transmissão de genes envolvidos na patogênese e, assim, aumentam a diversidade na virulência fenotípica entre as cepas (FIERER; GUINEY, 2001).

### 2.3 Epidemiologia

A espécie de *Salmonella* com maior importância em medicina veterinária é a *S. enterica* subsp. *Enterica*, entretanto qualquer sub-espécie e seus sorovares são potencialmente patogênicos mesmo que, em muitos casos, não se conheça por completo

seus fatores de virulência. Diferentes sorotipos têm sido identificados em animais. Não há espécie-especificidade, embora evidências apontem certa seletividade de determinados sorotipos nas infecções em animais (TRAUB-DARGATZ; BESSER, 2007; QUINN et al., 2011).

Nos Estados Unidos, apesar de existir uma variação nos tipos de sorovares isolados de casos clínicos em equinos, há uma maior ocorrência de Typhimurium, seguido por Newport, Anatum e Agona, com pequenas variações quanto ao sorovar isolado e sua frequência em determinado período. Isso se deve ao fato das cepas surgirem em surtos e depois desaparecerem (FERRIS et al., 2003; TRAUB-DARGATZ; BESSER, 2007; QUINN et al., 2011), como por exemplo, a cepa DT104 da *S. Typhimurium* que na metade da década de 90, por aproximadamente cinco anos, foi responsável por epidemias global (TRAUB-DARGATZ; BESSER, 2007).

No Brasil, Ribeiro et al., (2010) realizou um estudo de 10 anos em que foram identificados em nove equinos com enterites os sorovares Newport (3), Typhimurium (2), Glostrup (2), Saintpaul (1), *Salmonella enterica* subsp. Enterica 4,5,12i (1). Em outro estudo Hofer et al., (2000) relataram a ocorrência dos sorotipos em equinos de frigoríficos no Nordeste, sendo os principais isolados Anatum (19,8%), Carrau (16,6%) Saint-paul (14,7%), Agona (10,1%) e Typhimurium (7,16%).

A principal rota de infecção é a fecal-oral, que ocorre devido à contaminação ambiental, alimentar ou de equipamentos e trabalhadores, decorrente da excreção da bactéria por qualquer animal como, aves, roedores e outros equinos (RADOSTITS et al., 2007). Contaminações de equipamentos são importantes meios de transmissão em surtos em hospitais veterinários (HIRD et al., 1986). A coprofagia, característica dos animais jovens, particularmente de potros, aumenta o risco de contaminação (RADOSTITS et al., 2007). A contaminação por aerossóis, proposta em outras espécies (OLIVEIRA et al., 2006), ainda não foi comprovada como um meio de infecção para equinos, mesmo sendo uma rota teoricamente possível (TRAUB-DARGATZ; BESSER, 2007). Os surtos ocorrem normalmente durante o verão e outono quando a temperatura ambiental é maior (CARTER et al., 1986).

A infecção por *Salmonella* spp. em equinos adultos é esporádica e geralmente relacionada a fatores estressantes. Pode ocorrer também em grupos de animais adultos submetidos a excesso de trabalho ou treinamento ou mais frequente quando hospitalizados em clínicas veterinárias (BARROS, 2007). Fatores de risco, que induzem a debilidade do animal, estão associados à infecção pelos diferentes sorovares, como por

exemplo: cólicas, tratamento com antibióticos e anti-helmínticos, hospitalização, estresse induzido por transporte, gestação, mudança de estábulo, de dieta ou de tratador, clima quente e úmido, cirurgias, anestesia, e doença concomitante (GIBBONS, 1980; HIRD et al., 1986; FEARY; HASSEL, 2006). Já em potros a doença ocorre mais comumente na forma de surtos, cujos fatores podem estar associados a contaminação da ração e/ou água e a alta infestação de endoparasitas (WENKOFF, 1973).

A excreção de *Salmonella* sp. por animais portadores e assintomáticos, pode ocorrer de forma intermitente e transitória, por meses ou semanas, e o número de bactérias envolvidas geralmente é baixo, por consequência alguns portadores não são detectados em testes de rotina (MORSE et al., 1976; BEGG et al., 1988). A prevalência, baseado em cultura de fezes, de equinos eliminando *Salmonella* sp em hospitais veterinários pode variar de 1 a 13 % (SMITH; REINA-GUERRA; HARDY, 1978; ROBERTS; O'BOYLE, 1981; KIM et al., 2001; ALINOVI et al., 2003) diferente dos encontrados em equinos alojados em outras instalações, como fazendas, que indicam uma prevalência de 1 a 3% (MURRAY, 1996).

O risco de infecção nosocomial por *Salmonella* sp. está sempre presente devido ao possível contato de animais susceptíveis (altos níveis de estresse) com ambientes contaminados. Além disso, animais que estão recebendo antimicrobianos têm um maior risco e, por consequência exposição às baixas cargas de bactéria, podem resultar em doença significativa (BEGG et al., 1988; MURRAY, 1996). Há também o risco de transmissão para pessoas que estejam em contato com esses animais ou com materiais contaminados (WEESE, 2002; BENDER; TSUKAYAMA, 2004). O monitoramento dessa bactéria é de fundamental importância, pois surtos podem causar consideráveis perdas econômicas e também o fechamento temporário de hospitais veterinários (CASTOR et al., 1989; ALINOVI et al., 2003).

## **2.4 Patogenia**

As fases de infecção da *Salmonella* sp. compreendem a colonização, a invasão e a multiplicação bacteriana. Após a ingestão, a bactéria passa pelo baixo pH do estômago, apresenta capacidade de sobreviver em ambientes ácidos, e pelas substâncias antibacterianas (sais biliares, lisozima, defensina) em maiores concentrações na porção inicial do intestino delgado, colonizando, por fim, a porção distal do intestino delgado e cólon (SANTOS et al., 2003; BERK et al., 2005). Fatores como a antibioticoterapia, a

privação de alimento e água, podem alterar a flora intestinal e reduzir o peristaltismo facilitando a colonização do intestino (COTZER; TUSTIN, 2004).

O processo de invasão ocorre tanto pelas células epiteliais, da porção apical das vilosidades, quanto através das células M localizadas nas Placas de Peyer. Para invasão das células epiteliais, a bactéria produz moléculas sinalizadoras que provocam alterações no citoesqueleto das células hospedeiras induzindo a formação de projeções que englobam a bactéria e internalizam em fagossomos (OHL; MILLER, 2001; BOYEN et al., 2008). Os genes necessários para a invasão, indução da resposta secretora e inflamatória intestinal e para o sistema de secreção tipo III, responsáveis pelo rearranjo do citoesqueleto da célula hospedeira, o chamado “ruffling”, se encontram dentro da ilha de patogenicidade 1 (SPI-1) que estão em todas as sub-espécies e sorovares de *S. enterica* (ALTIER, 2005). Os genes codificados na SPI-4 também são necessários para entrada da bactéria nos enterócitos devido a uma adesina não fimbriada chamada SiiE, que auxilia nesse processo (GERLACH et al., 2008). As células M, após a fagocitose de macrófagos, são transportadas para as Placas de Peyer onde permaneceram dentro dos fagossomos (OHL; MILLER, 2001; SCHAUSER; OLSEN; LARSSON, 2004; BOYEN et al., 2008).

A multiplicação e sobrevivência intracelular bacteriana dependem dos genes codificados na SPI-2, SPI-3 e SPI-4. O SPI-2 é relacionado à multiplicação dentro das células epiteliais enquanto as SPI-3 (que tem o gene *mgtC*) e SPI-4 (codifica o sistema de secreção tipo I –TSS1) são correlacionados a sobrevivência dentro dos macrófagos (GERLACH et al., 2008). É dentro dos fagossomos que as bactérias se multiplicam e, posteriormente, infectam as células adjacentes, chegando até a lâmina própria para então serem transportadas para locais extra-intestinais, como os linfonodos. Isso foi evidenciado pela infecção experimental de *Salmonella* Typhimurium em pôneis que revelou cultura positiva de linfonodos mesentéricos 20 horas após a inoculação do agente (OWEN et al., 1979; OHL; MILLER, 2001; SCHAUSER; OLSEN; LARSSON, 2004; BOYEN et al., 2008).

As lesões entéricas, que levarão ao quadro de diarreia, são desencadeadas pela ação inflamatória no intestino, assim como pela produção de enterotoxina bacteriana. Isso induz a liberação de citocinas B e prostaglandinas que ativam a adenilatociclase que resultará na secreção de água, ânions de bicarbonato e cloro, para luz intestinal. O infiltrado inflamatório na mucosa intestinal e o dano às vilosidades diminuem a

superfície de absorção e aumenta a quantidade de líquido na luz (DARWIN; MILLER, 1999; BARROS, 2007).

Outros fatores de virulência incluem o lipopolissacarídeo (LPS) relacionado à invasão e à produção de enterotoxemia. Isso ocorre através do antígeno-O, um importante imunógeno, pois além de ser o principal alvo do sistema imune, também apresenta propriedades de virulência visto que induz resposta humoral e celular (MURRAY 1986; COETZER; TUSTIN, 2004).

Essas enterotoxinas, produzidas pelos sorovares mais severos, são similares as toxinas termo-labéis das *E. coli* e a toxina da cholera produzida pelo *Vibrio cholerae* (LIBBY et al., 1993; MURRAY, 1986). As enterotoxinas se ligam às células epiteliais e estimulam o aumento intracelular da adenosina monofosfato a secreção de ânions de cloro e bicarbonato, cátions sódio e água para o interior da luz intestinal, resultando em diarreia.

Enquanto a porção lipídica A, do LPS, é responsável pelos efeitos mediados por endotoxinas, que são liberadas ou absorvidas de tecidos lesados, podem provocar lesões vasculares como vasculites e trombozes em diferentes órgãos (LIBBY et al., 1993; BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

As citotoxinas produzidas por alguns sorovares causam aumento da permeabilidade do intestino (MURRAY, 1986; LIBBY et al., 1993) por selar os cátions como cálcio e magnésio, ocasionando mudanças estruturais da membrana celular, levando a um arredondamento celular e passagem seletiva de algumas moléculas (MURRAY, 1986). Flagelos são potentes antígenos, uma vez que a maioria dos linfócitos T-CD4<sup>+</sup>, produzidos na resposta inflamatória, são gerados contra seus epítomos (McSORLEY; COOKSON; JENKINS, 2000).

## 2.5 Sinais Clínicos

Os sinais clínicos de animais com salmonelose dependem da idade e estado imunológico do hospedeiro, assim como da virulência do sorotipo e dos fatores estressantes (COLLETT; MOGG, 2004; BARROS, 2007). Há também a interação do sorovar infectante com o hospedeiro, já que em animais adaptados pode haver bacteremia, febre e em poucos casos diarreia discreta. Em contraste, os sorovares em hospedeiros não adaptados causam infecções localizadas no intestino delgado e cólon

que se manifestam com enterocolite e diarreia, além de poderem apresentar sinais clínicos sistêmicos (OHL; MILLER, 2001).

Há três formas clínicas identificadas, contudo pode existir sobreposição entre essas categorias (SMITH, 1981). A forma mais severa afeta potros de 1-6 meses é caracterizada por ser hiperaguda, septicêmica e fatal. Os animais apresentam febre, fraqueza, depressão, letargia e perda do apetite, com morte em 24 a 72 horas. Os sinais de enterite podem ser ausentes, todavia quando presentes a diarreia têm coloração verde, odor fétido e pode apresentar muco ou sangue (WENKOFF, 1973; WHITLOCK, 1986; BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

A forma aguda é a apresentação clínica mais comum de salmonelose em equinos (WHITLOCK, 1986), tem duração média de uma a três semanas e pode afetar animais de todas as idades. Os equinos podem apresentar febre, dor abdominal leve a moderada, depressão, acentuada leucopenia, diarreia aguda e intermitente, além de anorexia e fraqueza. A diarreia é caracterizada por fezes líquidas profusas, verdes ou acastanhadas, contendo sangue, muco e fragmentos de mucosa intestinal. A severidade e duração, da diarreia, estão relacionadas com o sorovar infectante específico e a resistência do hospedeiro (GIBBONS, 1980; WHITLOCK, 1986). As complicações decorrentes das tiflocolite como choque séptico, laminite, tromboflebite, coagulopatia, insuficiência renal aguda e má-absorção crônica podem elevar os índices de morte (COHEN, 1999).

A forma crônica, mais rara, muitas vezes é uma seqüela de um episódio agudo e caracteriza-se por fezes amolecidas, febre intermitente, perda gradual de apetite, significativo emagrecimento e desidratação, afetando animais mais velhos e podendo durar semanas ou meses (GIBBONS, 1980; SMITH, 1981). O diagnóstico dessa forma é controverso, pois *Salmonella* sp pode estar presente em equinos carreadores sem causar diarreia, além de que não se conseguiu induzir experimentalmente este quadro clínico (WHITLOCK, 1986).

Outras três manifestações clínicas, caracterizadas por dor abdominal com intensidade variada, seguidas ou não por diarreia, foram atribuídas a *Salmonella* sp. (WHITLOCK, 1986). A primeira, caracteriza-se pela dor abdominal leve com diarreia. Nesse quadro, é difícil estabelecer uma relação causal já que, em algumas situações, pode haver isolados de *Salmonella* nas fezes e/ou mucosa retal, mas sem manifestação clínica. A segunda forma, marcada por uma severa dor abdominal com diarreia, é potencialmente fatal. Os sinais clínicos são parecidos com obstrução intestinal aguda, eventualmente, pode-se observar em cirurgia exploratória, grande quantidade de fluido e

gás no cólon. A terceira apresentação é caracterizada por dor abdominal com refluxo gástrico persistente e enterites proximais (WHITLOCK, 1986).

Outros sinais clínicos, não entéricos, associados com *Salmonella* sp foram descritos em equinos adultos como o aborto na metade final da gestação (MADIĆ et al., 1997), manifestação de febre, anorexia e severa depressão sem diarreia ou com apenas ligeiras alterações na consistência das fezes (SMITH, 1979). Em potros existem casos de infecções localizadas como uveítes, sinovite, osteomileite, meningoencefalites principalmente em animais neonatos (ROBERTS; O'BOYLE, 1981; PATTERSON-KANE et al., 2001; MAGDESIAN, 2005).

## **2.6 Achados de necropsia e histopatologia**

Macroscopicamente a forma hiperaguda é caracterizada pelo aparecimento de petéquias e equimoses nas serosas, principalmente do pericárdio e peritônio, além de esplénomegalia (BRYANS; FALLON; SHEPHARD, 1961). Há congestão do intestino delgado e os linfonodos estão aumentados, edemaciados e muitas vezes hemorrágicos. Podem ocorrer também edema e congestão pulmonar (BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

Nos casos agudos a lesão predominante na necropsia é tipicamente a deposição difusa de fibrina com alterações vasculares decorrente da inflamação, no cólon ou ceco (TRAUBER-DARGATZ; BESSER, 2007). A mucosa pode apresentar pequenas úlceras com ou sem pseudomembrana diftérica de coloração acinzentada que poderá aderir a mucosa tanto no ceco como no cólon maior. Os linfonodos mesentéricos poderão estar aumentados, hemorrágicos e edematosos (MCKENZIE; MAIR 2009). Outros locais do trato gastrintestinal que podem apresentar alterações são estômago, que pode estar hiperêmico, com edema e ocasionais hemorragias. No intestino delgado onde as lesões podem variar de congestão em serosas até necrose de mucosas com exsudato fibrinoso ou fibrino-hemorrágico (COLLETT; MOGG, 2004, TRAUBER-DARGATZ; BESSER, 2007).

Na forma crônica, as lesões entéricas podem ser restritas e leves, contudo alguns animais apresentam lesões fibrinosas irregulares na mucosa ou lesões ulcerativas, (circunscritas de 2-3 cm de diâmetro - úlceras de botão), geralmente localizadas no ceco e cólon (BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

A lesão histológica intestinal pode variar dependendo do tempo de duração da enterite, com predomínio de lesões necróticas, hemorragias, deposição de fibrina com infiltrado inflamatório predominante mononuclear (BROWN; BAKER; BARKER, 2007; TRAUBER-DARGATZ; BESSER, 2007). A necrose coagulativa da mucosa pode estar associada à aderência de um exsudato fibrinoso caracterizando uma enterite fibrinonecrótica. Na lâmina própria se observa frequentemente, trombos de fibrina nos capilares ou vénulas. A submucosa esta marcadamente congestionada e é acompanhada por edema considerável. No fígado, focos de necrose (nódulos paratifoideais) associados com células inflamatórias, nem sempre estão presentes, porém são sugestivos desse tipo de infecção quando observadas (BROWN; BAKER; BARKER, 2007; TRAUBER-DARGATZ; BESSER, 2007; McKENZIE; MAIR, 2009). Em animais com quadro de septicemia as lesões são típicas de endotoxemia e podem estar presentes no pulmão, baço, rim, fígado e adrenal (BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

## **2.7 Diagnóstico e diagnóstico diferencial**

O diagnóstico clínico de salmonelose é difícil, pois outros agentes podem levar ao quadro de colite com sinais clínicos idênticos (FEARY; HANSEL, 2006). As lesões, macroscópicas e histopatológicas são sugestivas e o isolamento ou identificação do agente etiológico associado às lesões é necessário para a confirmação do diagnóstico (COLLETT; MOGG, 2004; FEARY; HASSEL, 2006; BARROS, 2007; PIEREZAN, 2009a). Para a detecção do microorganismo no animal vivo são realizados o cultivo microbiológico ou reação da cadeia de polimerase (PCR) das fezes, sendo a cultura o método mais específico. Entretanto esse teste apresenta uma sensibilidade limitada além de necessitar alguns dias para obtenção do resultado (McKENZIE; MAIR, 2009). Para melhorar a sensibilidade deve haver um enriquecimento seletivo, de preferência em dois meios, seguido por semeadura em dois ágar seletivos (HYATT; WEESE, 2004; McKENZIE; MAIR, 2009).

Outros testes incluem biópsia da mucosa retal (HYATT; WEESE, 2004), e testes sorológicos. A sorologia tem valor limitado para o diagnóstico, pois nem sempre há um aumento dos títulos durante o curso da doença. Pode haver ainda respostas diferentes entre equinos devido a variedade de sorovar, além disso há aumento nos títulos conforme a idade, em animais saudáveis (OWEN et al., 1979; HOUSE; SMITH, 2000).

Portanto, a sorologia não é um bom indicador para detectar a infecção nem o estado imunológico do animal (ROBERTS; O'BOYLE, 1982).

Após a necropsia, *Salmonella* sp. geralmente é isolada de linfonodos mesentéricos e intestino, porém poderá ser isolada de outros tecidos, principalmente quando houver septicemia. Contudo também deve haver o enriquecimento e uso de meios seletivos (HOUSE; SMITH, 2000; COLLETT; MOGG, 2004; FEARY; HASSEL, 2006). O teste imuno-histoquímico (IHQ) utilizando anticorpos anti *Salmonella* sp. tem importância quando o isolamento bacteriano não é viável (PATTERSON-KANE et al., 2001; DAGLEISH; BENAVIDES; CHIANINI, 2010).

Para o diagnóstico diferencial, a idade do animal afetado, manifestações clínicas e severidade, devem ser avaliadas. Para enterites em potros se deve realizar pesquisa para infecções por Rotavírus, *Listeria monocytogenes*, certas cepas de *E. coli*, *Clostridium perfringens* e *C. difficile*, *Rhodococcus equi*, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp, assim como avaliar os casos de diarreia nutricional (FEARY; HASSEL, 2006; OLIVER; STÄMPFLI, 2006; WARNER et al., 2012). Em animais adultos como diagnósticos diferenciais devem ser realizados para Febre Potomac dos cavalos (Ehrlichiose monocítica equina), provocada pela *Ehrlichia risticii*, diarreia associada à administração de antibióticos ou anti-inflamatórios não esteróides (AINE); *Clostridium perfringens* (principalmente tipo A e C), infecção por *C. difficile*, enterite por *Rhodococcus equi*, enterite associada à ciatostomíneos, enterite granulomatosa, neoplasias intestinais, peritonites, hepatopatias, intoxicação por arsênico (COIMBRA et al., 2006; FEARY; HASSEL, 2006; OLIVER; STÄMPFLI, 2006; PIEREZAN et al., 2009b).

## 2.8 Controle e profilaxia

A alta prevalência de equinos eliminando *Salmonella* sp. realça a importância de medidas rotineiras de controle e prevenção da disseminação deste patógeno em hospitais, fazendas e outros locais com a alta concentração de animais ou que tenham constante renovação/troca de animais (MURRAY, 1996). A contaminação ambiental pode ocorrer antes mesmo da identificação do animal, por isso a rápida identificação compreende a maioria dos esforços de vigilância em muitos hospitais (BENEDICT; MORLEY; VAN METRE, 2008). Além disso, a bactéria é extremamente difícil de ser eliminada das instalações (DWYER, 2004).

O objetivo de minimizar a dose infectante tem como medidas importantes a limpeza completa das áreas prováveis de contaminação fecal e prevenção da distribuição mecânica de material contaminado. Algumas áreas requerem particular atenção, como estábulos, frestas no piso e equipamentos utilizados no manejo, incluindo baldes de água e/ou bebedouros automáticos. No ambiente cirúrgico se deve atenção a drenos, sonda nasogástrica e bombas (MURRAY, 1996). Outras medidas de controle incluem o isolamento de animais infectados, controle de roedores, cuidado com o armazenamento dos alimentos evitando a entrada de pássaros e instrução de procedimentos higiênicos adequados (GIBBONS, 1980).

No caso dos estábulos e pastagem não há nenhum procedimento ambientalmente seguro para a desinfecção do solo ou piso quando houver alojado um animal que esteja eliminando *Salmonella* sp. Os organismos infecciosos podem sobreviver no piso com fezes por mais de 5 anos (RADOSTITS et al., 2007). Nesse caso a única solução possível é remover 8-12 cm do solo (ideal 20-30 cm). Deve-se ter cuidado com as camas de baias, usualmente maravalha, pois podem transportar patógeno, e nunca devem ser espalhadas em pastagens, mas sim descartadas em locais em que os animais não tenham acesso ou em compostagens (DWYER, 2004).

A limpeza deve incluir a remoção de resíduos orgânicos, pois quando as medidas de limpeza são adequadas, diminui a necessidade do uso extensivo de desinfetantes (MURRAY, 1996). Desinfetantes fenólicos, compostos de amônia quaternário e Virkon-S são utilizados com sucesso em surtos e em hospitais veterinários recentemente (SCHOTT et al., 2001; DWYER, 2004)

A preocupação com infecção nosocomial de *Salmonella* sp resultou no desenvolvimento de um programa de controle de infecção (PCI) em 84% dos hospitais universitários e em clínicas particulares, dos EUA (KIM et al., 2001; BENEDICT; MORLEY; VAN METRE, 2008). Surtos de salmonelose podem levar ao fechamento completo do hospital, assim como a uma remediação substancial (DALLAP SCHAER; ACETO; RANKIN, 2010).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Seleção dos casos

Um estudo retrospectivo foi realizado nos arquivos do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) no período de 2003 até 2010. Foram selecionados os casos que preenchiam pelo menos uma das duas condições: (1) equinos com diagnóstico de infecção por *Salmonella* sp., que apresentavam lesões intestinais com isolamento bacteriano e/ou imuno-histoquímica (IHQ) positiva; (2) equinos que apresentaram lesões intestinais, ou diagnóstico de septicemia, porém sem um agente etiológico definido. Desses, foram revisados o histórico, achados de necropsia e histopatológicos e adicionalmente foi realizado o teste de IHQ para detecção de *Salmonella* sp. Concomitantemente se realizou um estudo prospectivo dos casos de necropsia de equinos realizados no SPV-UFRGS durante os anos de 2011 e 2012.

Em todos os casos amostras de tecidos e órgãos foram coletados durante a necropsia, fixadas em solução de formalina tamponada a 10% por 24 a 48 horas, desidratadas em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Cortes histológicos de 5µm foram corados pela hematoxilina e eosina (HE) para análise microscópica (PROPHET et al., 1992).

#### 3.2 Exame Imuno-histoquímica

Fragmentos de intestino, fígado, estômago e linfonodos fixados em parafina foram cortados a 4µm de espessura e para adesão em lâmina positivada (ImmunoSlide-EasyPath<sup>®</sup>). Os cortes foram desparafinados em xilol e reidratados em graduações decrescentes de álcool até água destilada. O bloqueio da peroxidase endógena foi feito pela incubação das lâminas em solução de peróxido de hidrogênio a 10% em metanol, por 15 minutos em temperatura ambiente. A recuperação antigênica foi realizada com protease XIV (Sigma Chemical Company, Poole, United Kingdom<sup>®</sup>), durante 15 minutos em temperatura ambiente. Para a diminuição das ligações inespecíficas (“background”), as lâminas foram tratadas com leite desnatado (Molico<sup>®</sup>) 5% em água destilada, durante 15 minutos. Os cortes foram incubados com o anticorpo primário policlonal (SCHAUSER et al., 2004, Biogenesis<sup>®</sup>) na diluição de 1:1000 em *Phosphate Buffered Saline* (PBS), durante uma hora à 37°C. Em seguida, foi utilizado anticorpo

secundário biotinilado por 20 minutos e depois tratados com o conjugado estreptavidinaperoxidase (Estreptavidina-peroxidase LSAB, Dako, Carpinteria, California, United States of America<sup>®</sup>) por mais 20 minutos. Como cromógeno, se utilizou AEC (AEC + High Sensitivity – Dako), por dois minutos. Os cortes foram contra-corados com hematoxilina de Mayer por menos de 1 mim, lavadas e montadas em meio aquoso. Controles positivos (WATANABE et al., 2011) foram utilizados simultaneamente no procedimento (PROPHET et al., 1992; SCHAUSER, OLSEN; LARSON, 2004; EYZAGUIRRE; HAQUE, 2008). Como controle negativo, cortes de intestinos de equinos que tiveram óbitos sem manifestação entérica, assim como de animais com lesões entéricas foram incubados com PBS, em substituição ao anticorpo primário.

### 3.3 Exame Microbiológico

As amostras de intestinos lesionados foram coletadas durante exame de necropsias, foram acondicionadas em frascos estéreis e enviadas para o Setor de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS para análise bacteriológica. Um fragmento de cada órgão foi inoculado em ágar Triptona de Soja (TSA, Oxoid) suplementado com 5% de sangue ovino, incubados em temperatura de  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24-48 horas. Paralelamente a este procedimento, foi feito um enriquecimento seletivo para a pesquisa de *Salmonella* sp. O inóculo original foi transferido para 9 mL de Caldo Tetrionato Müller-Kauffmann (Merck) e em 9,9 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis (Merck), sendo incubados em banho-maria por 24 horas a  $41 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Alíquotas de cada um dos meios do enriquecimento seletivo foram semeadas em ágar Xilose Lisina Tergitol-4 (XLT4, Oxoid) e ágar Verde Brillhante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose (BPLS, Oxoid). Ambos os meios foram incubados por 48 horas a temperatura de  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . Três colônias típicas de *Salmonella* sp em ambos os meios sólidos foram selecionadas e semeadas em TSA (Oxoid) para confirmação bioquímica, por meio dos testes de ágar Triplice Açúcar Ferro (TSI, Himedia), produção de gás sulfídrico, indol e motilidade (SIM, Himedia), 2-nitrofenilB-Dgalactopiraminosídeo (ONPG) e caldo ureia (Oxoid), de acordo com MacFaddin (2000) e Quinn et al., (2011).

Isolados com perfil bioquímico compatíveis com *Salmonella* sp. foram confirmados pela prova da aglutinação com soro polivalente somático (Probac, São

Paulo) e enviados para sorotipificação na Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

#### 4. RESULTADOS

No período do estudo foram necropsiados 448 equinos dos quais 10 (2,05%), que apresentavam enterites e tiveram diagnóstico de infecção por *Salmonella* sp. com isolamento bacteriano ou imuno-histoquímica (IHQ) positiva. Desses dez casos, um ocorreu em 2009 dois em 2010 e o restante em 2012, sendo a distribuição durante todo o ano com uma maior concentração nos meses de verão e outono.

Todos os animais eram oriundos do Rio grande do Sul sendo quatro de haras e os demais de pequenas propriedades.

O histórico e sinais clínicos dos animais com diagnóstico de salmonelose estão representados na tabela 1.

**Tabela 1** – Identificação, histórico e sinais clínicos dos equinos diagnosticados com Salmonelose no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, durante o período de 2003-2012.

Nº	Idade	Raça	Sexo	Histórico e sinais clínicos
1	6 meses	SRD	Fêmea	Três equinos da mesma propriedade apresentavam diarreia amarelada fétida, hipertermia, prostração e anorexia. Tratados com enrofloxacina, anti-tóxico e dipirona. Morte em 24h após o início dos sinais clínicos.
2	3 meses	Mangalarga	Macho	NI
3	5 anos	Crioula	Macho	Hospitalização, por 4 dias, para orquiectomia eletiva. Após a alta apresentou anorexia, hipertermia, urina de coloração vermelha e diarreia por 5 dias, não responsiva a antibiótico. Submetido à eutanásia.
4	7 anos	SRD	Macho	Equinos 4 e 5 oriundos da mesma propriedade iriam participar de uma prova de rodeio. Receberam aveia no cocho, devido a escassez de pastagem. No dia seguinte a chegada apresentaram anorexia e apatia. No 2º dia estavam com sinais de cólica, agitação, sudorese intensa, hipertermia e mucosa cianótica (Equino 4) e hiperêmica (Equino 5). Tratados com fluidoterapia, lidocaína, dexametasona e mercepem®. Submetido à eutanásia
5	10 anos	SRD	Fêmea	
6	Adulta	SRD	Fêmea	Cólica. Realizado laparotomia.
7	8 anos	Crioula	Macho	Anorexia por dois dias e tratado com omeprazol. Foi internado em uma clínica particular por cinco dias, permanecendo com anorexia, apresentou edema do pescoço e língua. Tratamento fluidoterapia e penicilina. No quinto dia apresentou hipertermia, lacrimejamento intenso e sangue na urina. No mesmo dia, teve diarreia progredindo para quadro de choque. Submetido à eutanásia.
8	7 meses	Crioula	Fêmea	Insuficiência respiratória grave, aumento de volume bilateral no pescoço (região linfonodos), feito tratamento de azitromicina. Na clínica particular, medicada com sulfa e ceftiofur. Apresentou diarreia durante 12 dias até o óbito.
9	3 anos	SRD	Macho	Hospitalização por 12 dias para correção de fratura no olécrano do membro esquerdo. Após 12 dias voltou com suspeita clínica de choque circulatório. Segundo o proprietário, na noite anterior apresentou dor abdominal e diarreia; exames clínicos revelaram mucosas cianótica a hiperêmica, extremidades frias e líquido peritoneal turvo. Exames bioquímicos revelaram leucopenia. Terapêutica utilizada dexametazona, fluidoterapia, gentamicina e pentabiótico. Submetido à eutanásia.
10	40 dias	NI	Fêmea	Encontrado morto sem sinal clínico. No mesmo piquete ainda estavam duas éguas com potros ao pé, onde um destes apresentou quadro de infecção intestinal e foi isolado para tratamento.

#### **4.1 Alterações macroscópicas**

Lesões macroscópicas foram observadas no intestino grosso de todos os cavalos, e se caracterizavam por serosas difusamente avermelhadas/hiperêmicas (6/10); em alguns casos com áreas segmentares, de diferentes extensões, bem delimitadas na serosa estendendo-se até a mucosa com coloração vermelho escuro, e consistência friável observado na alça dorsal do cólon maior em um equino (Figura 1) ou de forma difusa envolvendo cólon dorsal, ventral e ceco (Figura 2) em dois casos.

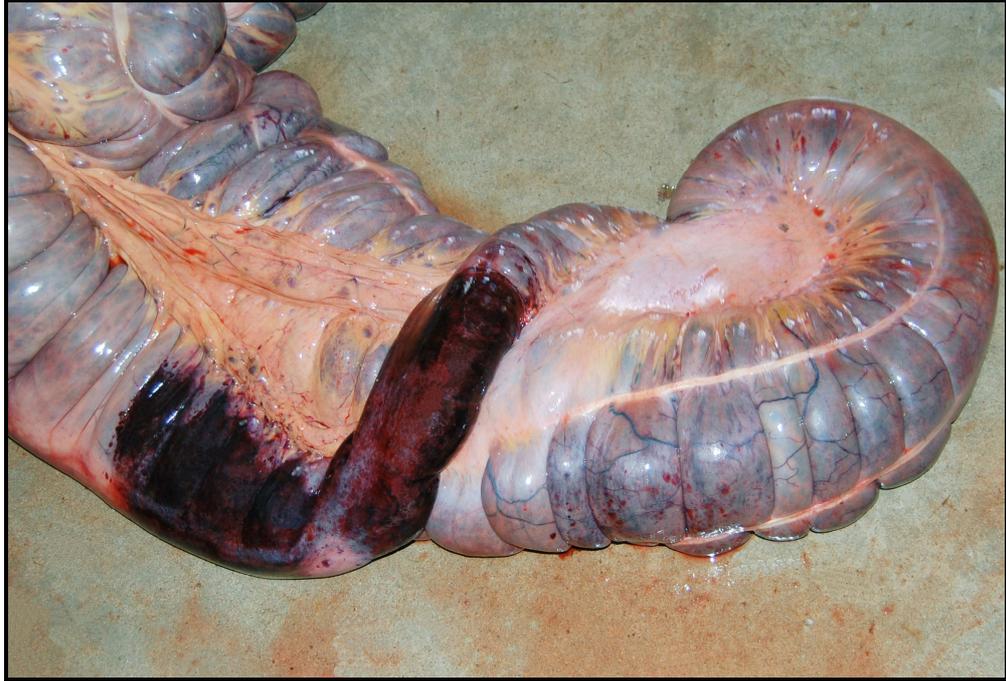
Na mucosa se observou espessamento (Figura 3), hiperemia (5/10); áreas multifocais vermelho-escuras, associadas a ulceração (Figura 4) foi visualizada (3/10) e superfície rugosa com aspecto finamente granular (Figura 5). Adicionalmente se constatou edema gelatinoso claro transmural (2/10), por vezes associado com áreas multifocais de ulceração em um caso (Figura 6).

Pseudomembrana amarela-acastanhada aderida a mucosa do intestino (Figura 7) se observou em 3/10, além de úlceras avermelhadas recobertas por fibrina em um caso (Figura 8). Na tabela 2 se observa as alterações macroscópicas no intestino grosso e delgado desses dez equinos.

**Tabela 2** – Alterações macroscópicas de intestino (delgado e grosso), dos equinos diagnosticados com Salmonelose no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, durante o período de 2003-2012.

Nº	Intestino delgado		Intestino grosso	
	Serosa	Mucosa	Serosa	Mucosa
1	S.A.	S.A.	S.A.	Superfície rugosa, granular.
2	S.A.	S.A.	S.A.	Superfície rugosa, granular.
3	S.A.	S.A.	Avermelhada / hiperêmica com hemorragia segmentar localizada.	Espessada / hiperêmicas com úlceras e pseudomembrana.
4	Hiperêmica com petéquias e equimoses.	Hiperêmica, espessada com pseudomembrana.	Avermelhada.	Espessada, edemaciada e hiperêmica.
5	Hiperêmica com petéquias e equimoses.	Hiperemia e pseudomembrana.	Avermelhada.	Espessada, edemaciada e hiperêmica.
6	S.A.	S.A.	Avermelhada / hiperêmica com áreas de hemorragia segmentar difusa.	Espessada/hiperêmicas com áreas multifocal vermelho escuro, úlcera e pseudomembrana.
7	Hiperêmica com petéquias e equimoses.	Hiperêmica com deposição de fibrina sobre as placas de peyer.	Avermelhada.	Espessada e hiperêmica
8	S.A.	S.A.	S.A.	Edemaciada com áreas de ulceração e pseudomembrana.
9	S.A.	S.A.	Avermelhada / hiperêmica com áreas de hemorragia segmentar difusa.	Espessada / hiperêmicas com área multifocal vermelho escuro, úlceras e pseudomembrana.
10	Hiperêmica	S.A.	S.A.	Hiperêmica e edematosa.

S.A: sem alterações.



**Figura 1** – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso, serosa hiperêmica com área de hemorragia segmentar extensa na alça dorsal do cólon maior.



**Figura 2** – Salmonelose. Equino 6. Intestino grosso, áreas segmentares na serosa de diferentes extensões com coloração vermelho escura no cólon maior.



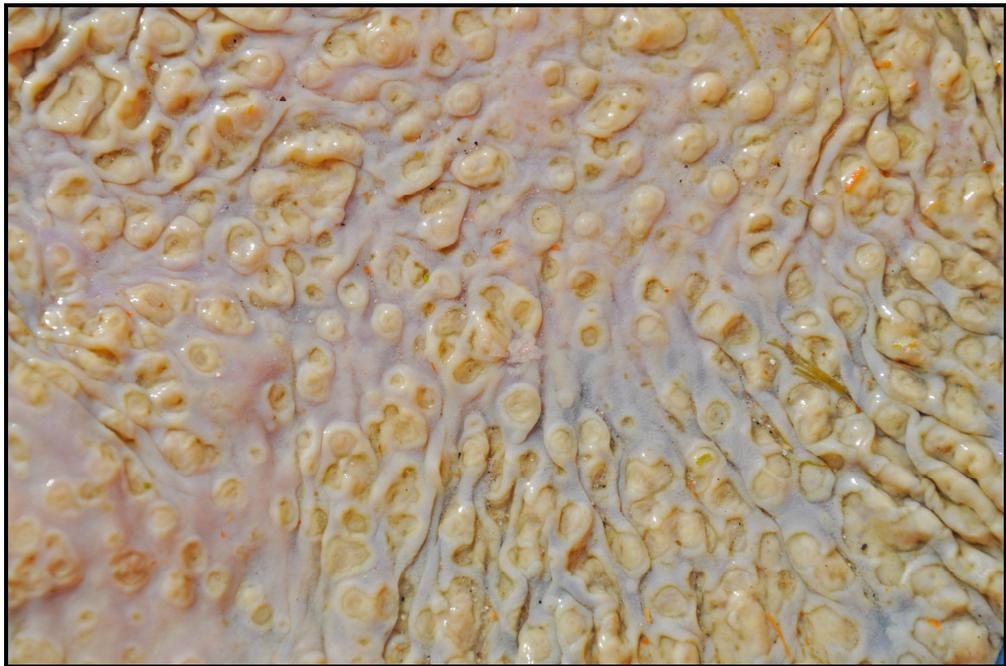
**Figura 3** – Salmonelose. Equino 5. Intestino grosso (colón maior e ceco) com acentuado espessamento da mucosa.



**Figura 4** – Salmonelose. Equino 9. Intestino grosso (colón maior e ceco) intenso edema com áreas multifocais vermelho escuras com ulceração da mucosa.



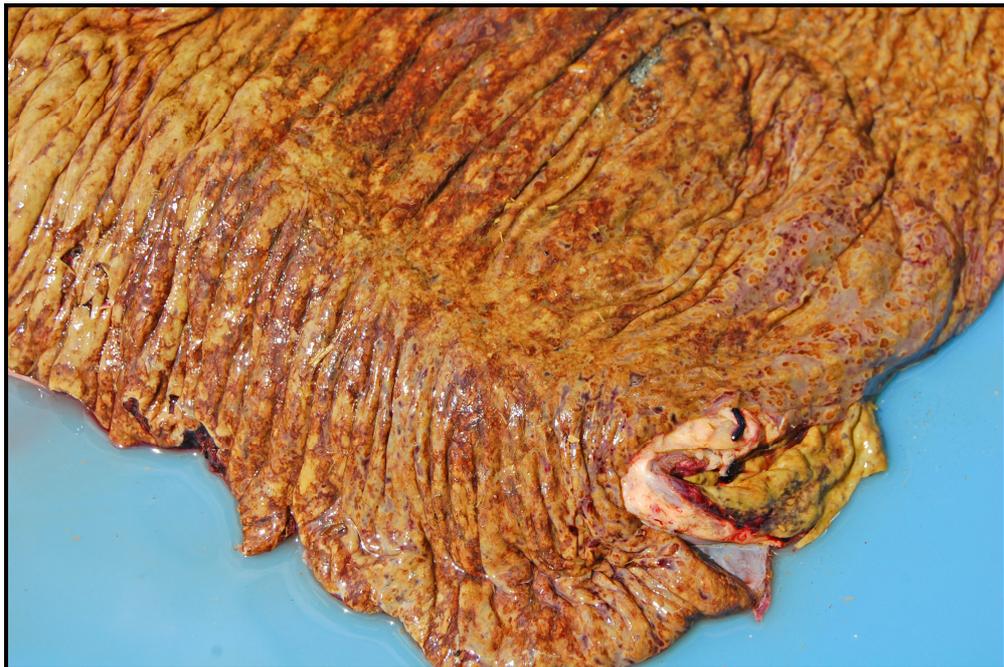
**Figura 5** – Salmonelose. Equino 1. Intestino grosso (côlon maior) mucosa com superfície rugosa e aspecto finamente granular.



**Figura 6** – Salmonelose. Equino 8. Intestino grosso (côlon maior) mucosa com múltiplas úlceras amareladas bem circunscritas (úlceras botonosas).



**Figura 7** – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso (cólono maior e ceco) mucosa recoberta por pseudomembrana amarelo-acastanhado.



**Figura 8** – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso (cólono maior e ceco) detalhe da figura anterior, superfície da mucosa com múltiplas úlceras avermelhadas recobertas por pseudomembrana amarelo-acastanhado.

O conteúdo intestinal, em todos os casos era abundante, liquefeito e de coloração que variava de diferentes tonalidades de verde (verde-oliva - Figura 9 -, verde-amarelado, verde-escuro e verde-acinzentado) assim como avermelhado ou castanho-avermelhado.

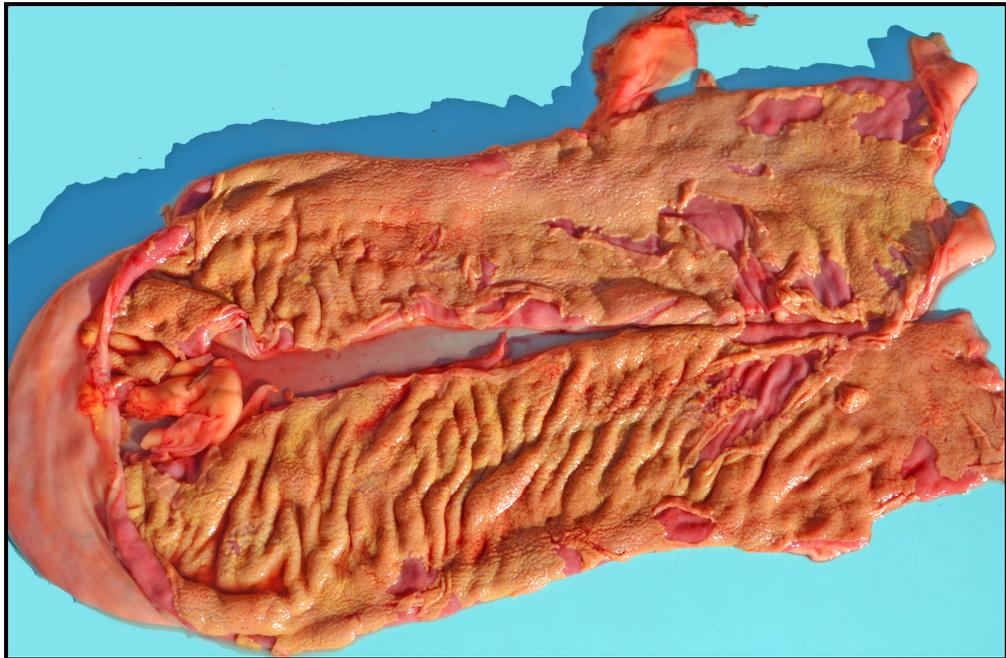


**Figura 9** – Salmonelose. Equino 2. Intestino grosso (côlon maior) abundante conteúdo liquefeito, verde-oliva.

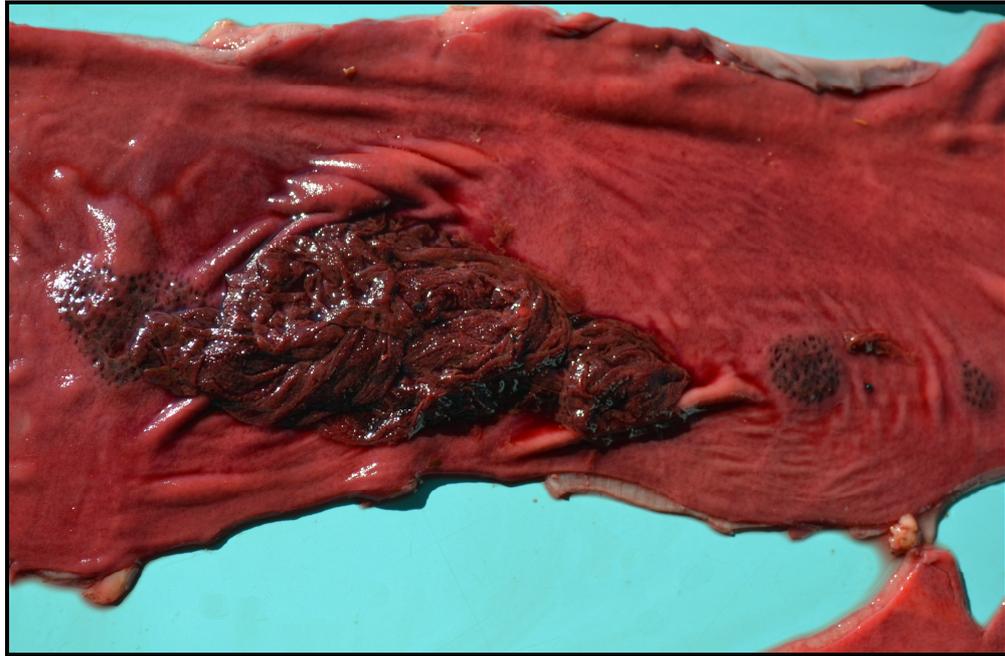
Os achados macroscópicos observados no intestino delgado se caracterizavam por hiperemia (4/10), além de petéquias e equimoses distribuídas difusamente na serosa (3/10). O conteúdo estava líquido de coloração marrom-avermelhado com grande quantidade de fibrina solta na luz intestinal (Figura 10), havia deposição de pseudomembranas amareladas na mucosa (Figura 11) em dois casos. Em um caso se observou na serosa, áreas intercaladas/segmentadas, variando de 3 a 10 cm de extensão, vermelho escuro, por vezes em toda a circunferência, que correspondiam na mucosa, a deposição de fibrina e hemorragia sobre as Placas de Peyer (Figura 12).



**Figura 10** – Salmonelose. Equino 4. Jejuno, abundante conteúdo líquido marrom-avermelhado com grande quantidade de fibrina solta na luz e aderido a mucosa.



**Figura 11** – Salmonelose. Equino 5. Jejuno, deposição de fibrina amarelada na mucosa formando uma pseudomembrana. Observe ainda intensa hiperemia da mucosa.

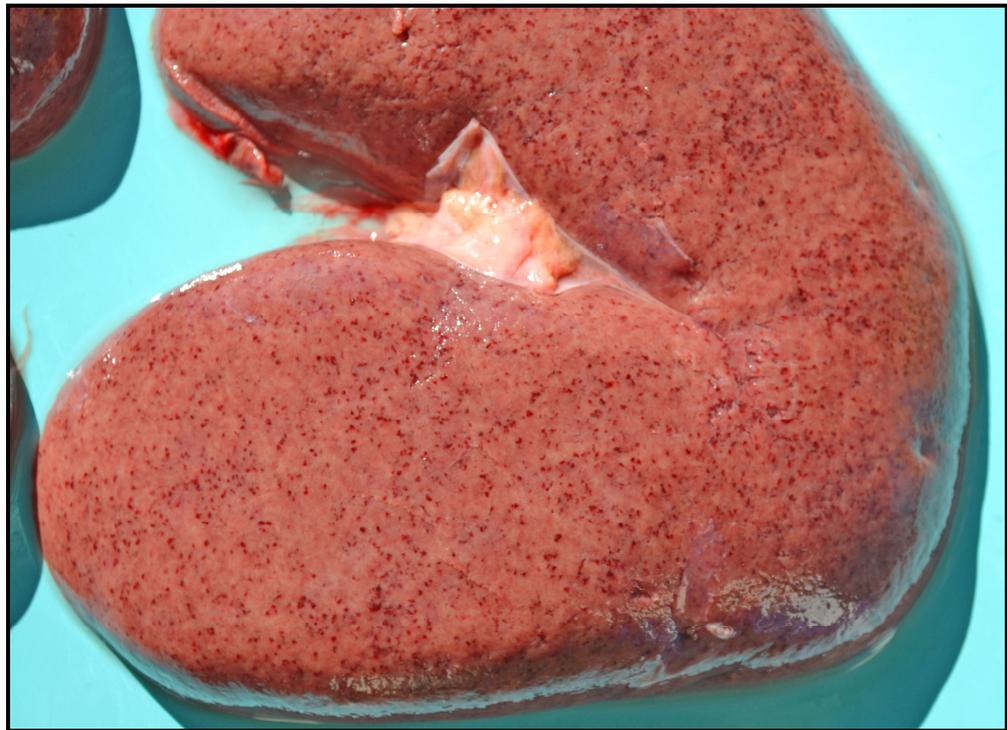


**Figura 12** – Salmonelose. Equino 7. Intestino delgado, deposição de fibrina de coloração vermelho escuro sobre placas de Peyer.

Linfonodos mesentéricos estavam moderadamente aumentados e edemaciados. No estômago se observou mucosa glandular avermelhada e edemaciada (4/10). Outras lesões macroscópicas, extra-entérica incluíram adrenais (6/10) com a cortical difusamente avermelhada (Figura 13); Rins com múltiplos pontos vermelhos escuro em toda a superfície capsular e cortical em um equino (Figura 14); Pulmão com edema e congestão (7/10), além de petéquias e equimoses multifocais (3/10). Essas petéquias também foram observadas no mesentério (2/10), na traqueia (1/10); coração (2/10) e musculatura esquelética e tecido subcutâneo (2/10).



**Figura 13** – Salmonelose. Equino 6. Adrenal, Intensa hemorragia do córtex “adrenal de choque”.



**Figura 14** – Salmonelose. Equino 7. Rim, superfície capsular com múltiplos pontos vermelhos variando de 0,2 a 0,5 cm de diâmetro.

## 4.2 Alterações microscópicas

As lesões intestinais foram caracterizadas como necróticas, fibrinonecroticas ou necro-hemorrágicas em todos os equinos, observadas principalmente no intestino grosso, afetando o cólon maior e ceco (8/10) e no intestino delgado (3/10).

Histologicamente as lesões no intestino incluíam necrose superficial da mucosa, e em algumas vezes transmural, caracterizada por hipereosinofilia com perda do epitélio de revestimento da mucosa, desaparecimento das criptas e vilosidades, com moderada congestão, hemorragia e trombos (Figura 15).

Criptas necróticas, dilatadas, desnudas ou revestidas por epitélio pavimentoso e/ou cuboidal, ocasionalmente preenchidas por debris necróticos (Figura 16) foram observadas (8/10), e nas vilosidades do intestino delgado (2/10).

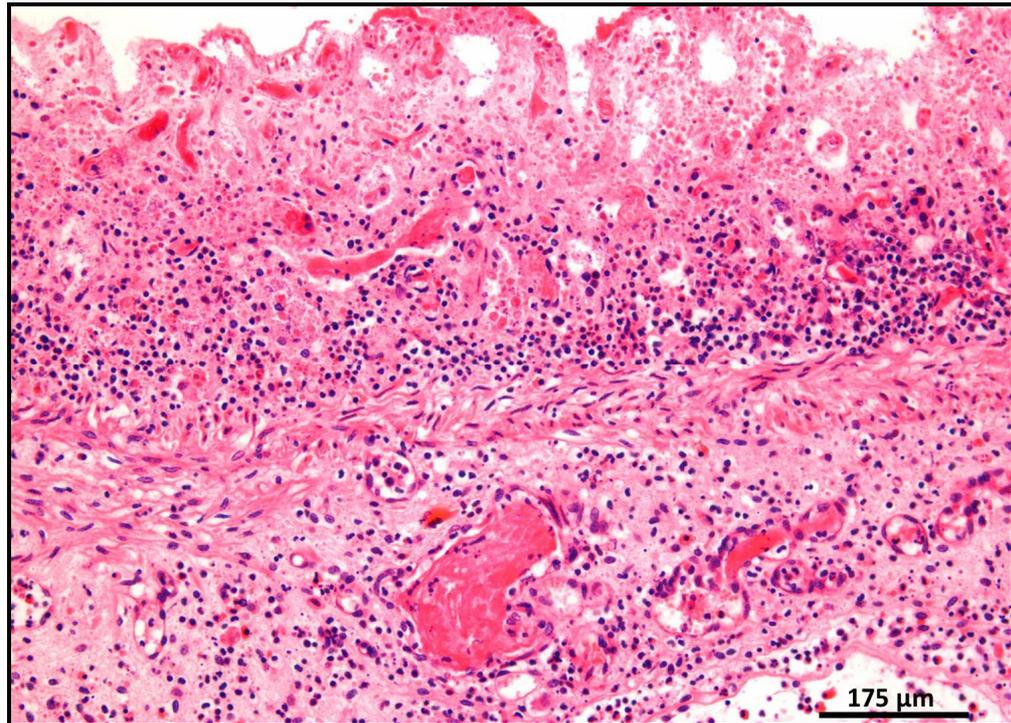
O infiltrado inflamatório era constituído predominantemente por neutrófilos, e em menor número por macrófagos, linfócitos, plasmócitos e eosinófilos. Estava associado a detritos celulares em alguns casos, geralmente difuso, principalmente na mucosa, e por vezes na submucosa foram observados em todos os casos.

Trombos de fibrina estavam presentes no interior de pequenas artérias e veias de médio calibre da submucosa em 5 casos e muitas vezes nas vênulas, arteríolas e capilares (3/10) da lâmina própria (Figura 17). Também se visualizou edema na submucosa (9/10)

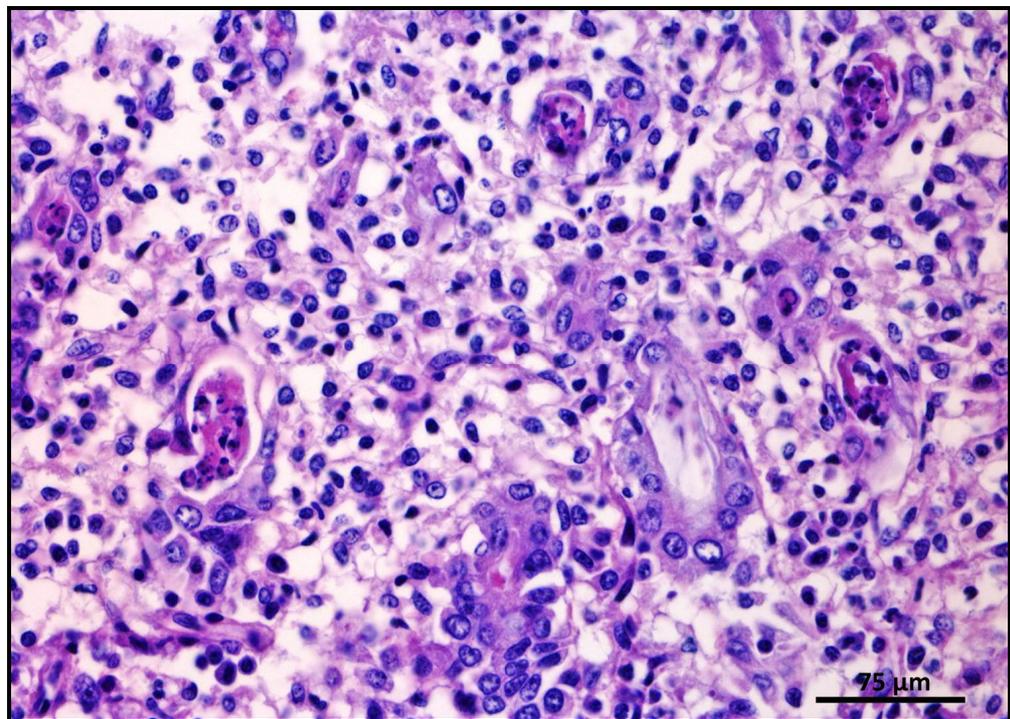
Pseudomembranas diftéricas associadas a necrose da mucosa, eram compostas por abundante fibrina, debris celulares, células inflamatórias e miríades de bactérias (Figura 18) no intestino grosso (4/10) e intestino delgado (2/10) (Figura 19).

Necrose de folículos linfoides na submucosa, caracterizada por rarefação central dos folículos associado com infiltrado de macrófagos foram observados com frequência (Figura 20)

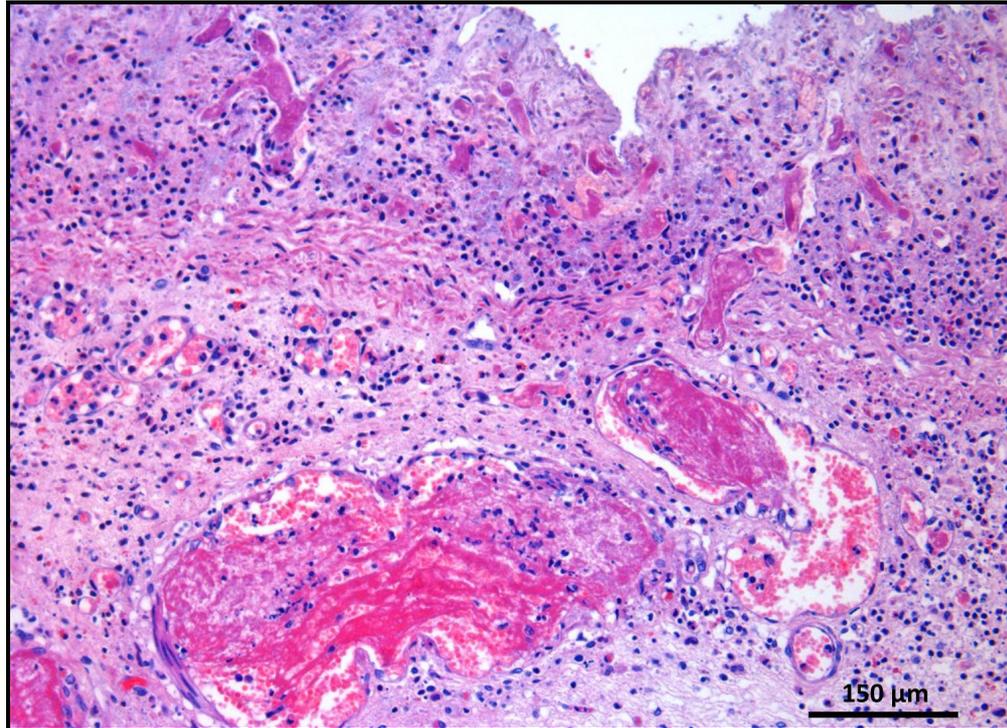
Dilatação de vasos linfáticos na submucosa acompanhada de leucocitoestase, predominantemente de neutrófilos (Figura 21) foi observada em 8 casos, sendo que em dois casos não houve leucocitoestase. Houve hiperemia da mucosa e submucosa (4/10) necrose fibrinoide de vasos sanguíneos na submucosa em dois casos. As intensidades dessas lesões estão representadas na tabela 2.



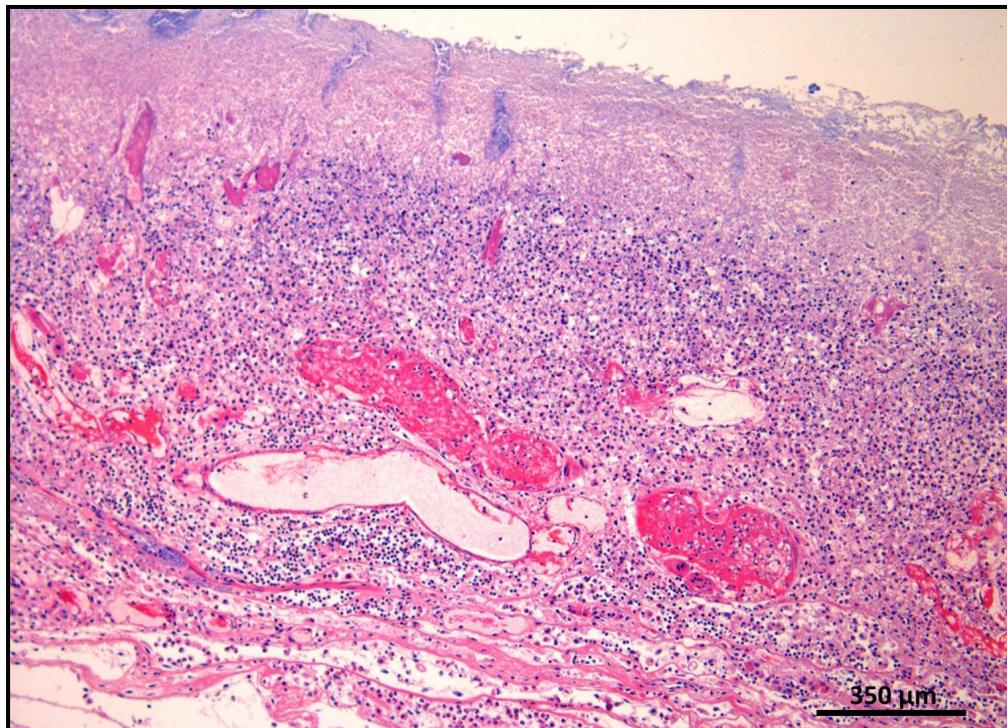
**Figura 15** – Salmonelose. Equino 9. Intestino grosso (cólono maior) necrose e hiperemia difusa acentuada da mucosa com múltiplos trombos na submucosa, além de infiltrado predominantemente neutrofilico. Hematoxilina eosina.



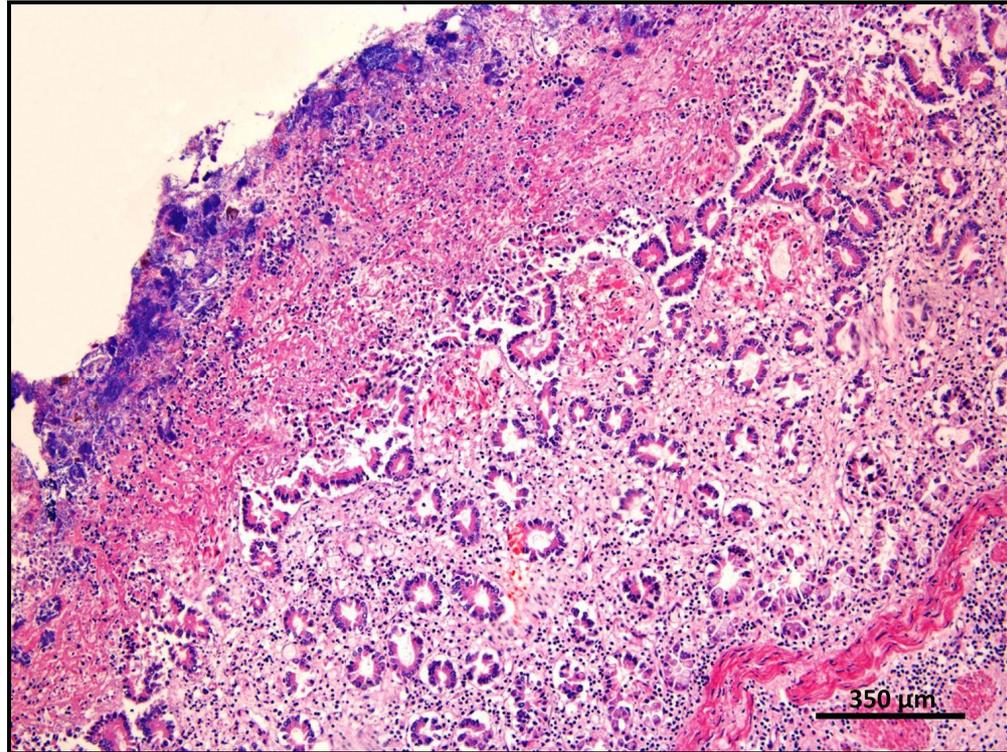
**Figura 16** – Salmonelose. Equino 1. Intestino Grosso (cólono maior) necrose de criptas, algumas criptas preenchidas por debris celulares, além de infiltrado predominantemente neutrofilico. Hematoxilina eosina.



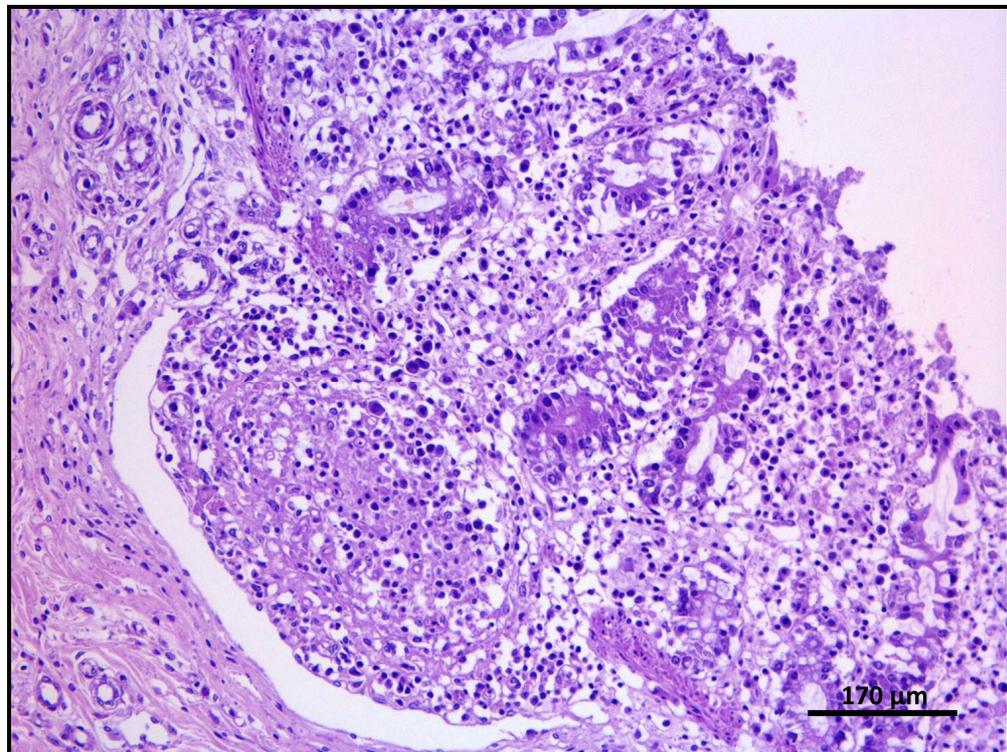
**Figura 17** – Salmonelose. Equino 9. Intestino grosso (cólono maior) necrose transmural com trombos de fibrina em vasos da lâmina própria da mucosa e na submucosa, com infiltrado predominantemente composto por neutrófilos. Hematoxilina eosina.



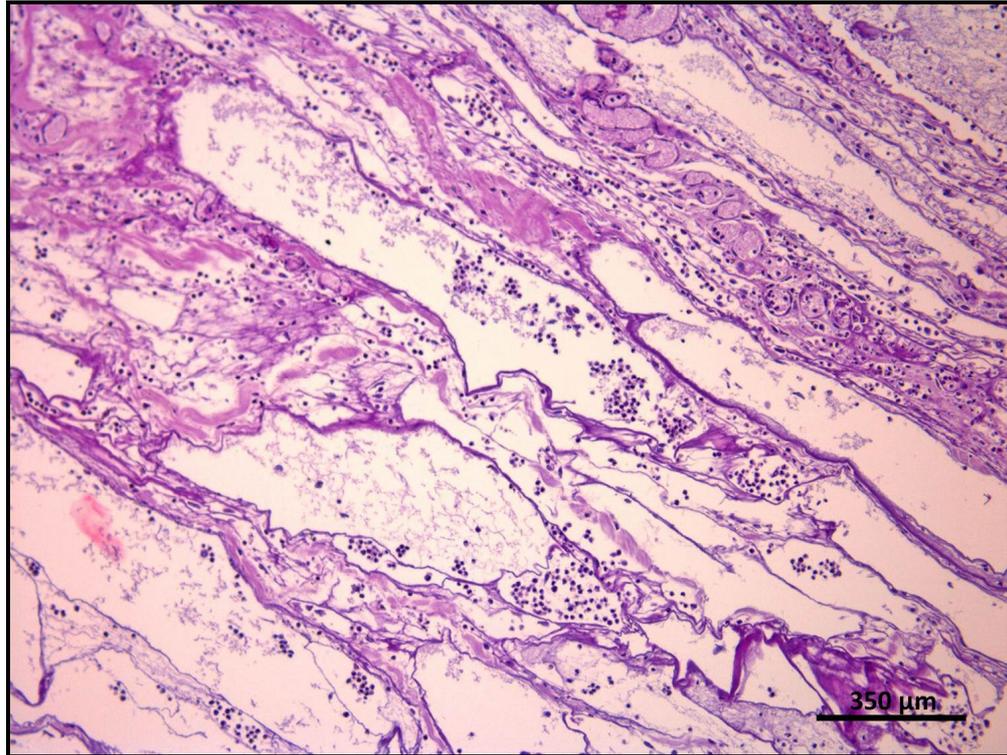
**Figura 18** – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso (cólono maior) pseudomembrana diftérica, composta por abundante fibrina, debris celulares, intenso infiltrado de células inflamatórias com predomínio de neutrófilos e miríades bacterianas associado a necrose da mucosa, difusa. Observa-se ainda intensa trombose. Hematoxilina eosina.



**Figura 19** – Salmonelose. Equino 5. Intestino delgado, pseudomembrana diftérica, composta por abundante fibrina, debris celulares, neutrófilos degenerados e miríades bacterianas associado a necrose da mucosa, difusa. Hematoxilina eosina.



**Figura 20** – Salmonelose. Equino 2. Intestino grosso, necrose de tecido linfoide na submucosa. Hematoxilina eosina.



**Figura 21** – Salmonelose. Equino 6. Intestino grosso, dilatação de vasos linfáticos na submucosa acompanhada de leucocitoestase, predominantemente de neutrófilo. Hematoxilina eosina.

**Tabela 3** – Distribuição e intensidade das lesões histológicas no Intestino (grosso e delgado) em 10 equinos com *Salmonella* sp. no Setor Patologia Veterinária da UFRGS.

Nº	Necrose da mucosa		Necrose cripta ou vilosidade		Inflamação da mucosa		Edema submucosa		Trombo submucosa		Pseudomembrana		Necrose linfoide		Dilatação linfática em Submucosa	
	ID	IG	ID	IG	ID	IG	ID	IG	ID	IG	ID	IG	ID	IG	ID	IG
1	+	+++	-	+++	+	++	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	++
2	-	+	-	++	-	++	-	+	-	++	-	-	+++	+++	-	+
3	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	++	-	+++	-	+++
4	++	-	+	-	+++	-	++	+++	-	-	+++	-	++	++	+++	+++
5	++	-	+	-	+++	-	++	+++	-	-	+++	-	++	++	+++	+++
6	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	++	-	++	-	+++
7	++	++	-	++	++	++	++	+++	++	-	++	+	++	++	+++	+
8	+	+++	+	+++	+	+++	-	+	-	+++	-	++	++	+++	++	++
9	-	+++	-	+++	-	++	+++	++	-	+++	-	++	-	+++	-	++
10	-	++	-	++	+	+	-	+	-	-	-	-	++	++	-	+

Intestino Grosso (IG); Intestino delgado (ID); Intensidade: Ausente: -; leve/discreto: +; moderado: ++; Acentuado /intenso: +++.

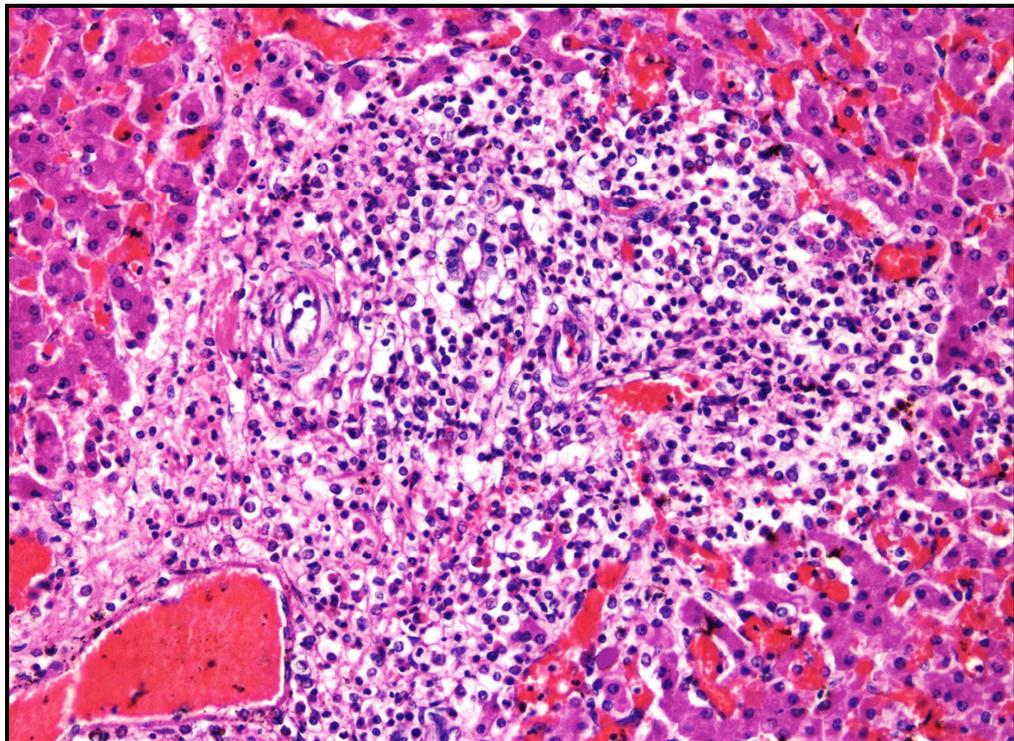
As lesões histológicas nos demais órgãos eram variadas e incluíram no fígado infiltrado inflamatório leve multifocal aleatório de neutrófilos e linfócitos associado a áreas de necrose “nódulos paratifoídes” (Figura 22). Observou-se trombose (5/10) e infiltrado linfoplasmocitário periportal.

No pulmão havia hemorragia e edema alveolar (5/10), além de trombose (2/10), e de mineralização da parede alveolar (1/10). Na adrenal havia hemorragia difusa acentuada (5/10) ou área multifocal de infarto na cortical (1/10). No coração havia hemorragia subepicárdica e subendocárdica (3/10), como também necrose, mineralização e infiltrado mononuclear leve no miocárdio em um caso.

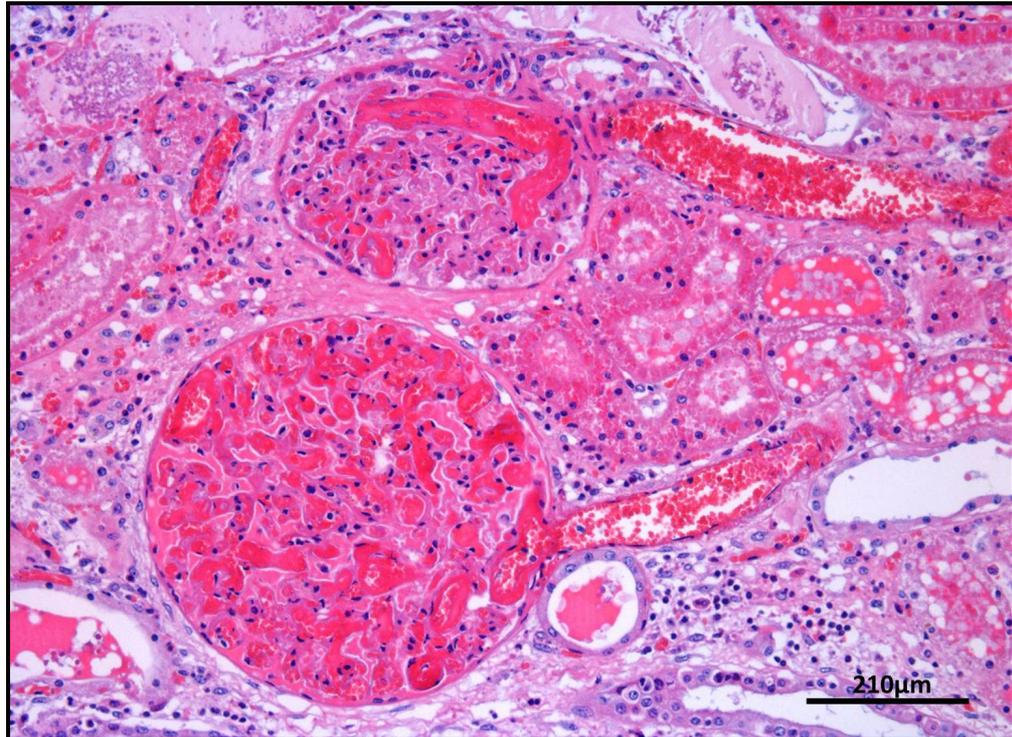
No rim de um equino se observou microtrombos e hemorragia acentuada nos glomérulos, além de material eosinofílico amorfo de aspecto finamente granular (proteína) nos túbulos e necrose tubular com hemorragia multifocal (Figura 23).

Nos linfonodos mesentéricos havia necrose de tecido linfóide associado a infiltrado multifocal de macrófagos (2/10). No baço havia em um caso necrose fibrinoide de centros foliculares, além de congestão difusa acentuada (Figura 24) e hemorragias em um caso.

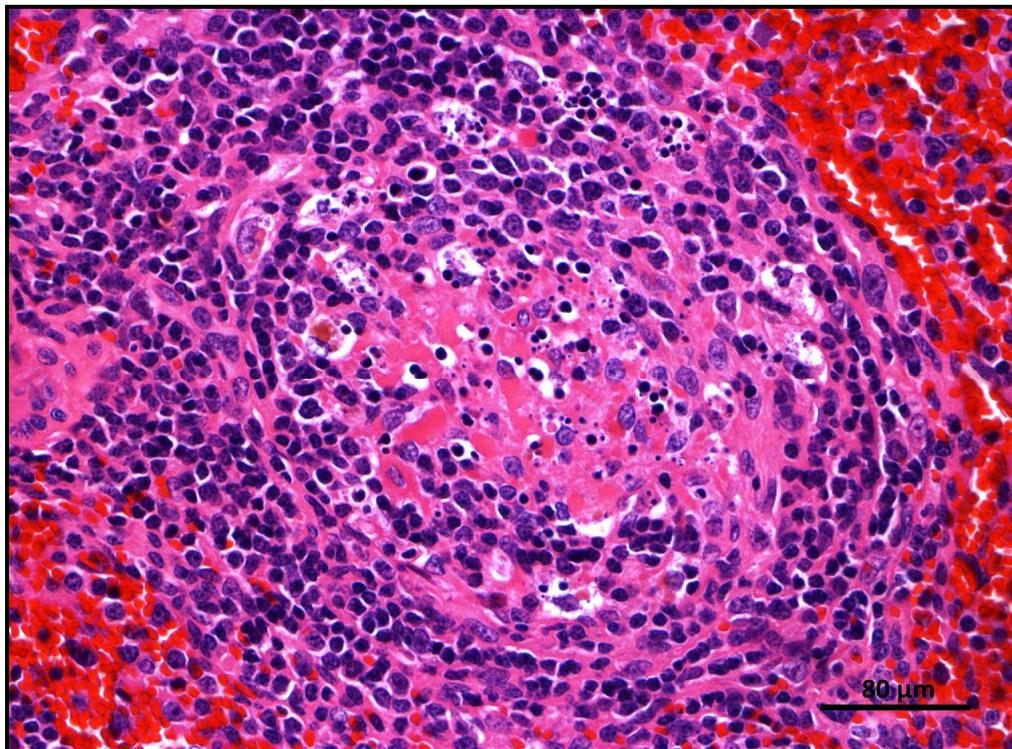
O estômago havia necrose transmural com hemorragia além de trombose moderada em um equino. Na tireoide se visualizou hemorragia em dois casos.



**Figura 22** – Salmonelose. Equino 10. Fígado infiltrado inflamatório de neutrófilos associadas a área de necrose “Nódulos paratifoídes”. Hematoxilina eosina.



**Figura 23** – Salmonelose. Equino 7. Rim, glomérulo com microtrombos e hemorragia. Necrose tubular com hemorragia multifocal e material eosinofílico amorfo de aspecto finamente granular nos túbulos. Hematoxilina eosina.



**Figura 24** – Salmonelose. Equino 9. Baço, necrose de tecido linfoide em polpa branca. Hematoxilina eosina.

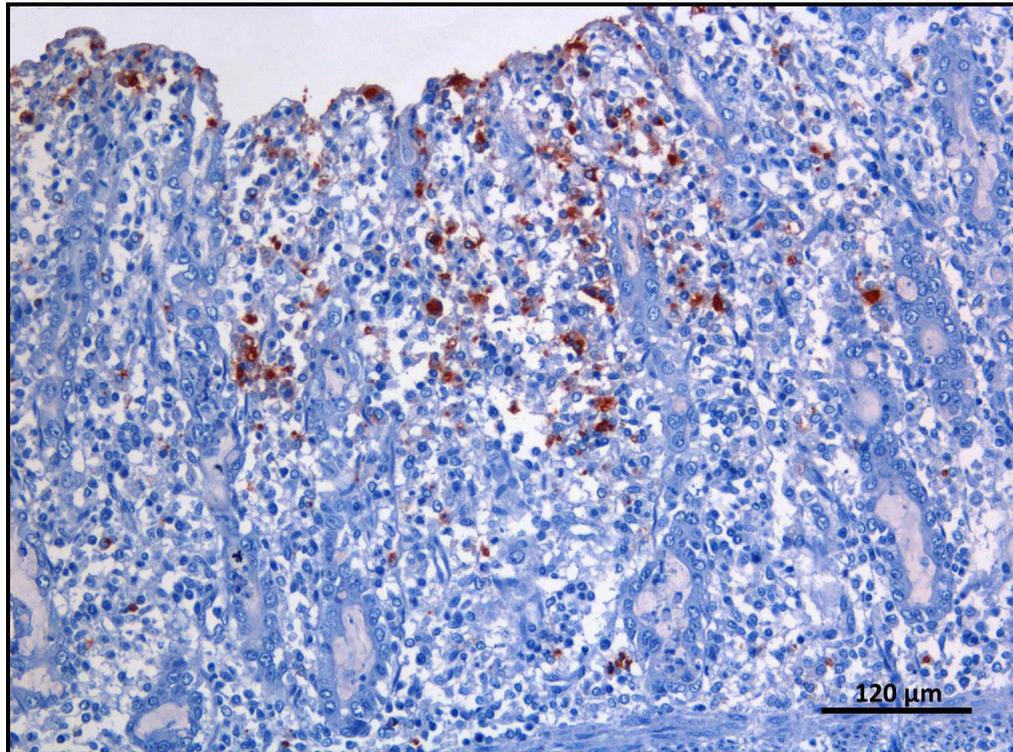
### 4.3 Exames complementares

O isolamento bacteriano com os sorotipos correspondentes encontra-se na tabela 4. Na sorotipificação os sorovares encontrados foram *S. Anatum* (2), *S. Typhimurium* (2) e *S. Muenster* (1). Adicionalmente, todos os casos foram positivos no teste de IHQ utilizando anticorpo policlonal pra *Salmonella* spp. Essa marcação ocorreu em oito casos no intestino grosso, Equinos 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10 e quatro no intestino delgado, Equinos 1, 4, 5, 8. A intensidade e distribuição também variaram, sendo difusa e acentuada na mucosa, por vezes até a lâmina própria nos Equinos 1, 3, 6, 8, 10, (Figura 25); os Equinos 1 e 8 se observou moderada marcação nas vilosidades do intestino delgado (Figura 26) e tecido linfoide associado. Nos casos 8 e 10 também pode constatar essa marcação no linfonodo mesentérico (Figura 27); já no Equino 2 essa marcação foi discreta a moderada na superfície da mucosa do intestino grosso. A marcação, no Equino 3, foi difusa acentuada em toda mucosa (Figura 28) além de macrófagos livres e criptas e restos celulares (Figura 29). Os Equinos 4 e 5 tiveram marcação leve e moderada na superfície do intestino delgado e nenhuma marcação no intestino grosso. No Equino 7 a marcação foi acentuada na pseudomembrana e superficial na mucosa.

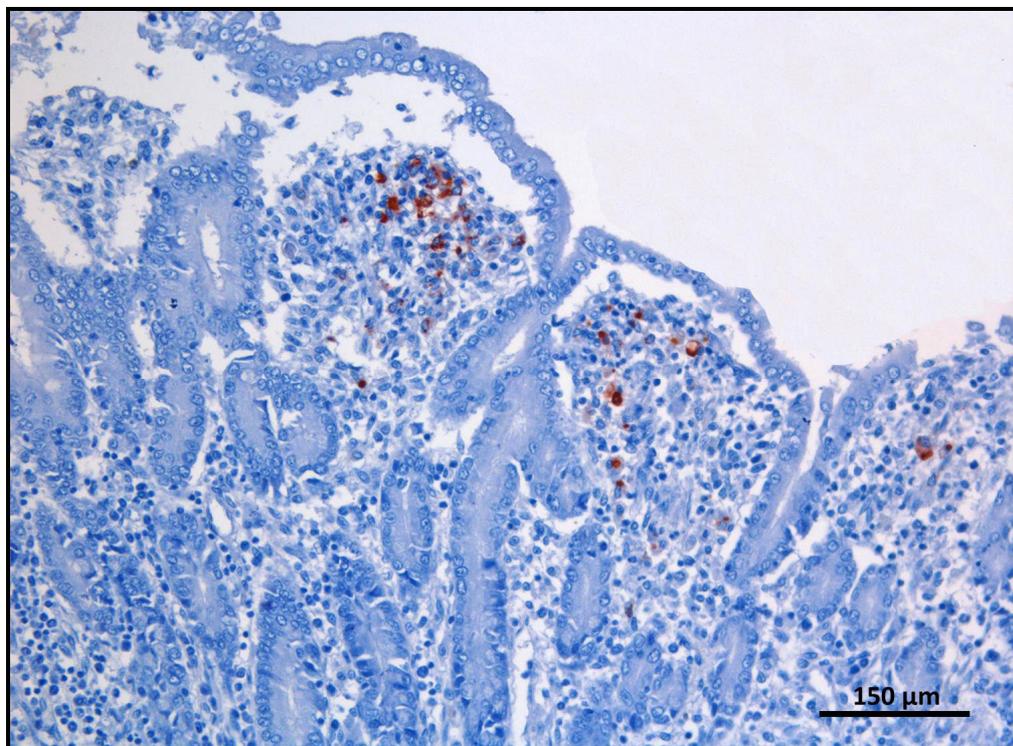
**Tabela 4** – Resultados dos exames de isolamento bacteriano e sorovares identificados nos casos de salmonelose em equinos diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS.

Nº	Isolamento	Sorovar
1	Sim	NR
2	Sim	Typhimurium
3	Sim	Anatum
4	NHC	--
5	NHC	--
6	Sim	Anatum
7	Sim	Muenster
8	Sim	Typhimurium
9	NHC	--
10	Sim	NR

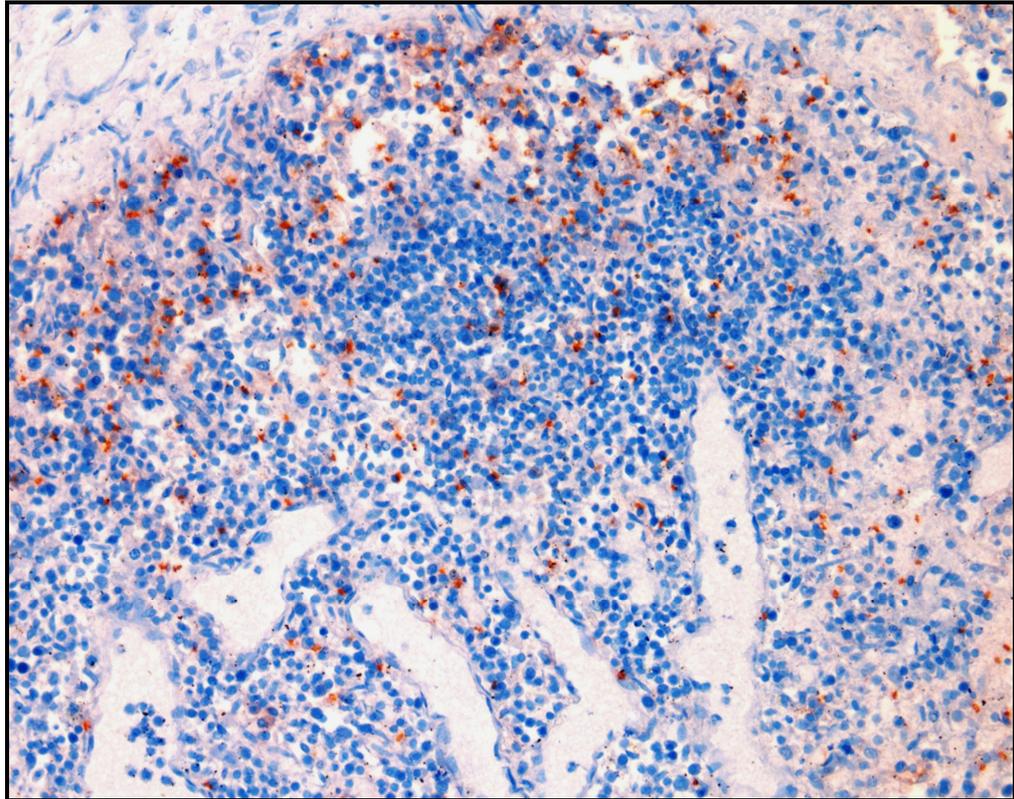
NHC - não houve crescimento em 72h. NR - Não realizado.



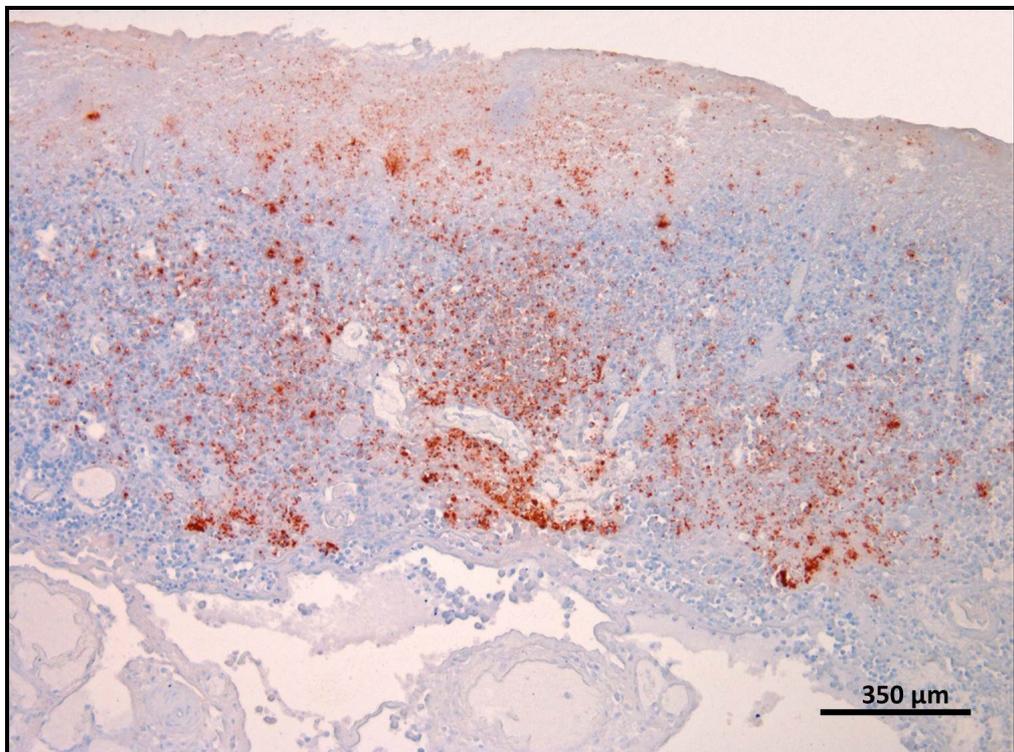
**Figura 25** – Salmonelose. Equino 1. Intestino Grosso. Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti-*Salmonella* demonstrando antígenos bacterianos na mucosa. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC.



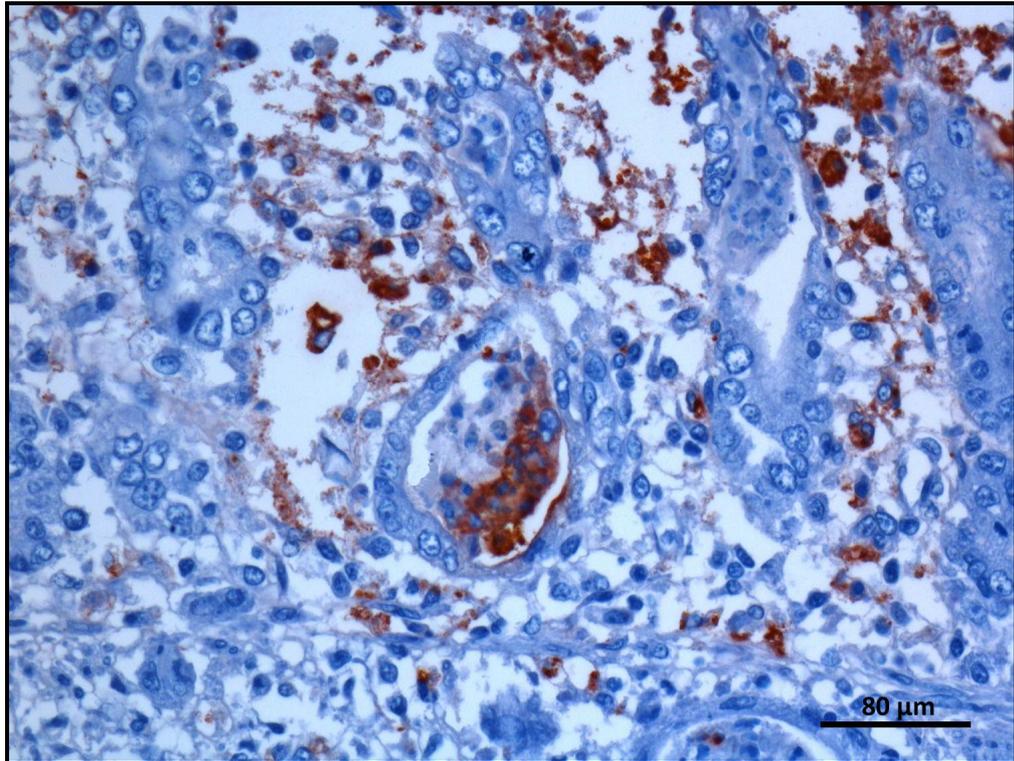
**Figura 26** – Salmonelose. Equino 1. Intestino delgado. Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti-*Salmonella* demonstrando antígenos bacterianos em macrófagos da na lâmina própria do ápice das vilosidades. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC.



**Figura 27** – Salmonelose. Equino 10. Linfonodo. Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti-*Salmonella* demonstrando antígenos bacterianos. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC.



**Figura 28** – Salmonelose. Equino 3. Intestino grosso. Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti-*Salmonella* demonstrando antígenos bacterianos difusamente na mucosa e submucosa. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC.



**Figura 29** – Salmonelose. Equino 1. Intestino grosso Imuno-histoquímica com anticorpo policlonal anti-*Salmonella* demonstrando antígenos bacterianos no interior das criptas necróticas. Método Streptavidina-biotina, cromógeno AEC.

## 5. DISCUSSÃO

Os sinais clínicos e alterações macroscópicas e histológicas são correspondentes aos relatados na literatura nos casos de salmonelose em equinos (WENKOFF, 1973; MORSE et al., 1976; GIBBONS, 1980). Esses achados, associado ao isolamento bacteriano, que ocorreu em sete casos, e/ou marcação positiva na IHQ com anticorpo anti-*salmonella*, em todos os casos, são fundamentais para o diagnóstico de infecção de *Salmonella* (COLLETT; MOGG, 2004; FEARY; HASSEL, 2006; BARROS, 2007; PIEREZAN, 2009a).

A salmonelose em equinos, particularmente nos adultos é favorecida por fatores de estresses (GIBBONS, 1980; ALINOVI et al., 2003; BROW; BAKER; BARKER, 2007). Hospitalização, tempo de permanência, tipo de procedimentos (cirúrgico ou ambulatorial), assim como doenças gastrointestinais e respiratórias influenciam na excreção da bactéria (HIRD et al., 1986; KIM et al., 2001; SCHOTT et al., 2001; ALINOVI et al., 2003). Cinco animais foram hospitalizados ou sofreram procedimentos cirúrgicos e não se pode estabelecer a fonte de infecção nesses equinos, se foi decorrente de uma infecção nosocomial ou se houve recrudescência de portadores assintomático. Para tanto seria necessário saber se no momento da internação o animal apresentava a bactéria ou não.

Há relatos sugerindo que em equinos adultos submetidos a algum tipo de estresse o quadro clínico pode ser desencadeado pela recrudescência da bactéria em animais portadores assintomáticos (GIBBONS, 1980; BEGG et al., 1988; McCAIN; POWELL, 1990). Há relatos de casos clínicos de salomenolose em equinos submetidos a alguma cirurgia ou outro procedimentos cirúrgicos não relacionados a doença gastrintestinal (CHAPMAN, 2009), como realizados pelos Equinos 3 e 9, no qual realizou-se orquiectomia e correção de fratura.

A infecção pode ser favorecida pelo transporte, especialmente, de longa duração quando há restrição ou mudança na dieta, assim como o uso de antimicrobianos os quais levam a alterações na microflora intestinal ou a diminuição do peristaltismo facilitando a colonização da *Salmonella* sp. (BEGG et al., 1988; MURRAY, 1996; OLIVER; STÄMPLI, 2006; CHAPMAN, 2009) explicando assim a infecção observada dois equinos adultos.

Potros apresentam maiores risco de contaminação devido a imunocompetência reduzida. Outro fator importante é a falta de competição da microflora intestinal nesses

animais jovens, o que pode favorecer o estabelecimento de *Salmonella* sp. (WHITLOCK, 1986; CHAPMAN, 2009). Em um dos casos que afetou potro, ocorreu a morte de mais dois animais na propriedade em um intervalo de 24h, caracterizando um surto. Como possível fonte de infecção nesses casos o manejo inadequado é a principal suspeita, haja vista que nos casos de surto a contaminação ambiental de baias utilizadas para tratamento ou parto, contato direto ou indireto com animais e materiais contaminados, assim como fonte comum de água e alimentos são os principais responsáveis (McCOOL; GILFEDDER, 1980; WALKER et al., 1995; CHAPMAN, 2009). Nos casos em que potros apresentaram manifestação clínica de maneira isolada, a contaminação pode ter ocorrido pelo contato com éguas assintomáticas. Isso é relatado em algumas fazendas que tem como manejo separar, em áreas apropriadas, potro com sua progenitora (WALKER et al., 1991).

O Rio Grande do Sul apresenta um clima temperado úmido subtropical com grandes amplitudes térmicas durante o ano (DECESSARO et al., 2010). O inverno pode-se ter temperatura próxima a 0°C e no verão pode haver máximas acima de 30°C (AMARANTE; SILVA, 2002). Nos casos observados nesse estudo, houve uma maior concentração entre os meses de verão e outono, que apresentam temperaturas mais elevadas. Em temperaturas ambientais altas há um maior risco de infecção, pois além do aumento da sobrevivência e a multiplicação da bactéria, pode haver comprometimento da resposta imune do hospedeiro por ser um fator estressante (CARTER et al., 1986, TRAUB-DARGATZ; BESSER, 2007).

A gravidade da infecção em equinos varia com a idade e fatores predisponentes como também o sorotipo envolvido. Na salmonelose equina os sinais mais graves geralmente são visto em potros com menos de quatro meses de idade, nesses a septicemia é mais comum do que em equinos adultos (BRYANS; FALLON; SHEPHARD, 1961; WENKOFF, 1973; ROBERTS; O'BOYLE, 1981; RADOSTITS et al., 2007). No presente estudo 75% dos casos (3/4) que envolveram potros foram compatíveis com a forma hiperaguda, apresentaram curso clínico severo, curto e com morte espontânea, decorrente de choque séptico.

A forma aguda da doença que é mais frequentemente relatada pode perdurar por um período de uma a duas semanas, seguido de morte, (SMITH, 1981; BROW; BAKER; BARKER, 2007) como foi observado em um equino. Os demais equinos adultos foram submetidos a eutanásia devido as consequências desencadeadas pelo

processo fisiopatológico da infecção, entres eles choque circulatório (OLIVER; STÄMPLI, 2006; MELO et al., 2010).

O sinal clínico mais observado foi diarreia, que esteve presente em cinco casos. A diarreia é resultado de distúrbios no balanço normal de fluídos, o que acarreta no desequilíbrio de eletrólitos levando a uma hiponatremia e hipocloremia. A perturbação dos processos fisiológicos é decorrente da liberação de endotoxina bacteriana, através de hiperestimulação, assim como pela resposta inflamatória do hospedeiro o que pode acarretar em alterações microvasculares do ceco e cólon ocasionando uma hipoproteinemia sistêmica e edema local da mucosa e submucosa (MURRAY, 1986; MAGDESIAN, 2005; OLIVER; STÄMPFLI, 2006). Diarreia em animais adultos esta associada à lesão no intestino grosso, devido a sua grande capacidade de absorção (OLIVER; STÄMPFLI, 2006), como observado em dois casos, em contrapartida lesões no intestino delgado em animais adulto não cursa com diarreia, como constatado nos Equinos 4 e 5 em que as lesões mais severas foram no intestino delgado.

O choque séptico é uma complicação comum de doenças gastrintestinais (MOORE; MORRIS, 1992; MELO et al., 2010). Os efeitos adversos da endotoxinas são decorrente da resposta do hospedeiro frente ao lipopolissacarideo bacteriano com a liberação de citocinas, principalmente o fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina 1 (IL-1), que irão interagir com neutrófilos, células endoteliais e plaquetas (BEUTLER; CERARMI, 1988). Choque circulatório foi associado aos casos pelos sinais clínicos, como: febre (5/10), desconforto abdominal (4/10) e leucopenia (1/10) (SWIDERSKI, 2000; MELO et al., 2010). Assim como por alguns achados, macroscópicos e microscópicos (JONES; HUNT; KING, 1996).

No exame *post-mortem* as lesões foram similares às encontradas em outros trabalhos, caracterizadas principalmente por uma tiflocolite (WENKOFF, 1973; ROTH, 1988; ASTORGA et al., 2004, RADOSTITIS et al., 2007). Em alguns casos, as lesões foram observadas em outros órgãos como consequência de lesões sistêmicas decorrente ao choque circulatório (COLLETT; MOGG, 2004; BROWN; BAKER; BARKER, 2007; RADOSTITIS et al., 2007). Não há um padrão de distribuição das lesões no intestino, normalmente são segmentares, podendo estar presente no intestino grosso e ausente no delgado ou até mesmo ter distribuição segmentar dentro da porção intestinal (ROTH, 1988). Todos os equinos apresentaram lesões macroscópicas no intestino grosso, com variação no tipo de lesão, distribuição e área afetada, enquanto em cinco

casos também houve alteração no intestino delgado sendo que em três casos as lesões mais severas foram observadas neste segmento.

Os achados encontrados no intestino corresponderam às lesões descritas na salmonelose equina. A variação das lesões observadas entre os casos pode ser explicada pela severidade e/ou tempo de duração da manifestação clínica até a morte. As lesões iniciais incluem hiperemia, extensas petéquias e edema da parede intestinal e em casos graves ou com um curso maior, pode haver necrose e exsudação de fibrina. O infiltrado inflamatório (colite/tiflíte) normalmente está associado a hemorragias e/ou áreas de deposição de fibrina, formando membranas diftericas, essas na luz intestinal ou aderida a mucosa, tais lesões são classificadas em tiflocolite fibrinosa ou fibrino-hemorrágica (BRYANS; FALLON; SHEPHARD, 1961; ROBERTS; O'BOYLE, 1982; ROTH, 1988; HOUSE; SMITH, 2000; RADOSTITIS et al., 2007).

Lesões renais como a observada em um equino desse estudo denominada de “ovo de peru”, foi identificadas em suínos com salmonelose. Recebe esse nome devido ao seu aspecto acastanhado com múltiplas petéquias distribuídas de forma uniforme pelo parênquima (BROWN; BAKER; BARKER, 2007). Esse aspecto é identificado em quadros onde há coagulação intravascular disseminada, em todas as espécies animais, especialmente em associação com septicemias provocadas por bactérias Gram-negativas (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). Assim como as hemorragias na adrenal encontradas em 50% dos casos têm sido observadas em quadros de choque (JONES; HUNT; KING, 1996)

As alterações observadas nos demais órgãos são compatíveis com as descritas na literatura nos casos de doenças hiperaguda ou agudas (COLLETT; MOGG, 2004; BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

As alterações histopatológicas observadas caracterizadas por necrose difusa da mucosa, observados em todos os casos, ocorrem devido a invasão bacteriana e dos efeitos necrosantes da atividade local dos neutrófilos (ASTORGA, et al., 2004; RADOSTITIS et al., 2007; BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

Formação de pseudomembranas, depleção linfóide nos folículos associados ao trato gastrointestinal e baço, assim como as lesões vasculares e inflamatórias na submucosa foram semelhantes às descritas em casos de salmonelose (WENKOFF, 1973; ROBERTS; O'BOYLE, 1982; BROWN; BAKER; BARKER, 2007), como também em casos de infecção por *Clostridium perfringens* tipo C e *Listeria*

*monocytogeneses* em equinos (WARNER et al., 2012; DIAB et al., 2012). Ressaltando assim a importância da identificação do agente.

Edema grave e trombose foram observados na lâmina própria e submucosa, lesões que podem ser explicadas devido a alteração microvascular decorrente a absorção, através da mucosa danificada ou liberação local de endotoxinas contribuindo para perda da viabilidade da mucosa (ASTORGA, et al., 2004; BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

O infiltrado inflamatório predominante nos casos foi de neutrófilos, similar a casos de enterites induzida por *Salmonella* sp em outras espécies, como bovinos e humanos, pois nesses casos há um mesmo padrão de resposta inflamatória (SANTOS et al., 2003).

Lesões hepáticas conhecidas como “nódulos paratifoídes” caracterizadas por áreas de necrose acompanhadas de infiltrado inflamatório, descritas em casos de salmonelose em suínos (BROWN; BAKER; BARKER, 2007) foi observada em quatro casos, porém sem marcação positiva na IHQ para *Salmonella* sp. Isso pode ser explicado pelo curto tempo de duração da doença, pois os animais que não tiveram morte espontânea foram eutanasiados logo após o aparecimento dos sinais clínicos.

O isolamento ou identificação do agente etiológico associado às lesões características é necessário para a confirmação do diagnóstico de salmonelose (COLLETT; MOGG, 2004; FEARY; HASSEL, 2006; BARROS, 2007; PIEREZAN, 2009a). O isolamento a partir de conteúdo intestinal, linfonodos, fígado assim como qualquer órgão indicativo de infecção é o método mais seguro para o diagnóstico. No presente estudo houve isolamento de conteúdo de cólon maior e ceco em 70% dos casos.

Como vantagem o cultivo possibilita a identificação do organismo, feita em cinco casos, assim como possibilita o teste de susceptibilidade a antimicrobianos (McKENZIE; MAIR, 2009). Entretanto existem fatores que dificultam o isolamento, como a necessidade de enriquecimento e meios seletivos para o cultivo (TRAUB-DARGATZ; BESSER, 2007), assim como amostra inadequada o que poderá facilitar crescimento de cultura mista. Uma alternativa para a confirmação do diagnóstico seria através do exame imuno-histoquímico que possibilita a visualização da bactéria em associação com a lesão (DAGLEISH; BENAVIDES; CHIANINI, 2010).

No presente estudo houve marcação positiva pra *Salmonella* em 100% dos casos. Em três casos que não houve isolamento, porém o diagnóstico foi respaldado pela

similaridade das lesões e das marcações observadas nos casos que obtiveram isolamento. O não isolamento pode estar associado a terapia com antimicrobiano em altas concentração. O emprego da IHQ como método complementar de diagnóstico de salmonelose já foi empregado em suínos, ovinos, aves e em poucos casos em equinos (PATTERSON-KANE et al., 2001; SCHAUSER; OLSEN; LARSSON, 2004; DAGLEISH; BENAVIDES; CHIANINI, 2010; WATANABE, et al., 2011). O presente trabalho ressalta que este método pode ser utilizado como alternativa em casos que o isolamento não é viável.

A distribuição de marcação na IHQ dos tecidos foi correspondente as lesões mais severas observadas na histologia. O intestino grosso teve marcação em 80% dos casos. A marcação foi predominante na superfície da mucosa, mas também foi observada no interior de macrófagos e tecido linfoide. Essa distribuição é condizente com a patogenia descrita na literatura. Pois o processo de invasão ocorre tanto pelas células epiteliais, da porção apical das vilosidades, quanto através das células M localizadas nas Placas de Peyer (OWEN et al., 1979; OHL; MILLER, 2001; SCHAUSER; OLSEN; LARSSON, 2004; BOYEN et al., 2008).

Entre os diagnósticos diferenciais ressalta-se em potros infecções por Rotavírus, *Lawsonia intracellularis*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Rhodococcus equi* e *Clostridium* sp. (FEARY; HASSEL, 2006; OLIVER; STÄMPFLI, 2006; WARNER et al., 2012). Essas possibilidades foram excluídas devido ao não isolamento dos agentes e/ou resultados negativos no teste IHQ de alguns.

Em equinos adultos os diagnósticos diferenciais foram para enterites associadas a larvas de ciatostomíneos (PIEREZAN et al., 2009b) e casos de Ehrlichiose monocítica equina, febre potomac dos equinos (COIMBRA et al., 2006), ambos já relatadas no Rio Grande do Sul. Fatores epidemiológicos e achados patológicos característicos desses agentes descritos nos referidos trabalhos não foram observados no presente estudo.

Os sorovares encontrados foram *S. Typhimurium*, Anatum e Muenstrer, desses, os dois primeiros já haviam sido associados a quadro clínico de salmonelose em equinos (SMITH; REINA-GUERRA; HARDY, 1978; CARTER et al., 1986), enquanto a *S. Muenster* havia sido associado com equinos assintomáticos e em casos clínicos nos bovinos (RADKE; MCFALL; RADOSTITS, 2002).

*Salmonella Typhimurium* foi descrita causando infecções em potros (WENKOFF, 1973), e infecções nosocomial em equinos adultos. Trabalhos mostram que 60% dos equinos acometidos por esse sorovar acabaram morrendo (CARTER et al.,

1986). No presente estudo quatro equinos tiveram morte espontânea, todos potros, desse dois foram isolados *S. Typhimurium*. A faixa etária dos animais acometidos e a porcentagem encontrado neste trabalho foi similar a observada por RIBEIRO et al. (2010). As diferenças de manifestação clínica e achados patológicos encontradas nos equinos com isolamento de *S. Typhimurium* pode ser explicado aos fatores intrínsecos de cada animal como estado imunológico do hospedeiro e fatores estressantes, assim como pela diversidade na virulência entre as cepas (FIERER; GUINEY, 2001; COLLETT; MOGG, 2004; BARROS, 2007).

*S. Anatum*, frequentemente encontrada em casos de salmonelose (CARTER et al., 1986, SMITH; REINA-GUERRA; HARDY, 1978) foi isolada em dois equinos. O quadro foi caracterizado por tiflocolite fibrino-hemorrágica similar ao observado por outros autores em quadro experimental com esse sorovar, exceto o tipo de infiltrado inflamatório, que foi composto por linfócitos, plasmócitos e histiócitos predominantemente e escassos neutrófilos (ROBERTS; O'BOYLE, 1982) diferente do observado que foi principalmente de neutrófilos. Nesses dois casos não houve alterações no intestino delgado e os achados observados em outros órgãos foram similares aos relatados em casos agudos de salmonelose (SMITH, 1981; ROBERTS; O'BOYLE, 1982).

A diferença na intensidade e no local da marcação na IHQ observada entre os equinos 3 e 6 pode ser explicada por fatores intrínsecos do animal, assim como diferença do tempo de fixação do material que pode interferir na técnica de IHQ (GIBBONS, 1980).

*S. Muenster* isolada em um caso apresentou como lesão uma enterocolite hemorrágica e colite, além de necrose de placas de Peyer. Diferente dos outros sorovares encontrado nesse estudo. Há pouca associação desse sorovar em caso clínico de salmonelose tanto em animais como em humanos (LÁZARO et al., 2004). E nos raros casos de associação em bovinos, se observa diferenças nos achados patológicos, pois as alterações observadas encontram-se no fígado, no baço, no útero sem afetar o intestino (RADKE; MCFALL; RADOSTITS, 2002).

## 6. CONCLUSÕES

Salmonelose é uma importante causa de doença entérica em equinos de diferentes idades. Em adultos esta associada a episódios de diarreia aguda e em potros com a forma hiperaguda.

Fatores estressantes estão associados ao desenvolvimento de sinais clínicos.

O intestino grosso, especialmente o cólon maior e ceco, são os principais locais afetados e as lesões caracterizadas por serem hemorrágicas, com deposição de fibrina e ulceração da mucosa que correspondem microscopicamente a tiflocolite necro-hemorrágica ou fibrino-hemorrágica.

Os principais sorovares associados a quadro clínico foram *S. Typhimurium* e *S. Anatum*, com similaridade entre os casos estudados isolados de *S. Anatum*.

A lesão por *S. Muenster* teve padrão diferente a dos outros sorovares, sendo associada pela primeira vez em quadro clínico em equinos no Brasil.

O teste de imuno-histoquímica utilizando anticorpos policlonal representa um método diagnóstico útil nos casos de salmonelose quando o isolamento de bactérias não é viável.

## REFERÊNCIAS

- ALINOVI, C. A. et al. Risk factors for fecal shedding of *Salmonella* from horses in a veterinary teaching hospital. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 60, p. 307–317, 2003.
- ALTIER, C. Genetic and Environmental Control of *Salmonella* Invasion. **The Journal of Microbiology**, v. 43, p. 85-92, 2005.
- AMARANTE, O. A. C.; SILVA F. J. L. **Atlas Eólico: Rio Grande do Sul** Secretaria de Energia Minas e Comunicações. Porto Alegre: SEMC, 2002. Disponível em <[http://www.sema.rs.gov.br/upload/ATLAS\\_EOLICO\\_RS\\_parte\\_001.pdf](http://www.sema.rs.gov.br/upload/ATLAS_EOLICO_RS_parte_001.pdf) > acesso em 28 jan, 2013.
- ASTORGA, R. et al. Outbreak of peracute septicaemic salmonellosis in horses associated with concurrent *Salmonella* Enteritidis and *Mucor* species infection. **Veterinary Record**, v. 155, p. 240–242, 2004.
- BARROS, C. S. L. Salmonelose. In: RIET-CORREA, F.; SHILD, A .L.; LEMOS, R .A. A.; BORGES, J. R. **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**. 3 ed., Santa Maria: Pallotti, 2007. v. 1, cap. 3, p. 416-425.
- BEGG, A. P. et al. Some aspects of the epidemiology of equine salmonellosis. **Australian Veterinary Journal**, v. 65, n. 7, p. 221-223, 1988.
- BENDER, J. B.; TSUKAYAMA, D. T. Horses and the risk of zoonotic infections. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 20, n. 3, p. 643-653, 2004.
- BENEDICT, K. M.; MORLEY, P. S.; VAN METRE, D. C. Characteristics of biosecurity and infection control programs at veterinary teaching hospitals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 233, p. 767–773, 2008.
- BERK, P. A. et al. Acid resistance variability among isolates of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, p. 859–866, 2005.
- BEUTLER, B. A.; CERARNI, A. The common mediator of shock, cachexia, and tumor necrosis. **Adv Immuno**, v. 142, p. 213-231, 1988.
- BOYEN, F. et al. Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: A closer look at epidemiology, pathogenesis and control. **Veterinary Microbiology**, v. 130, n. 1-2, p. 1–19, 2008.
- BRENNER, F. W. et al. *Salmonella* Nomenclature. **Journal Clinical Microbiology**, v. 38, p. 2465-2467, 2000.
- BROWN, C. C.; BAKER, D. C.; BARKER, I. K. Alimentary system. In: MAXIE, M. G.(Org.). **Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals**. 5<sup>th</sup>, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2007. v. 2, cap. 1, p. 1-296.

BRYANS, J. T.; FALLON, H.; SHEPHARD, B. P. Equine salmonellosis. **Cornell Veterinarian**, v. 51, p. 467-477, 1961.

CARTER, J. D. et al. Salmonellosis in hospitalized horses: Seasonality and case fatality rates. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 188, p. 163-167, 1986.

CASTOR, M. L. et al. Characteristics of *Salmonella* isolated from an outbreak of equine salmonellosis in a veterinary teaching hospital **Equine veterinary science**, v. 9, p. 236-241, 1989.

CHAPMAN, A.M. Acute Diarrhea in Hospitalized Horses. **Equine Practice**, v. 25, n. 2, p. 363-380, 2009.

COETZER, J. A. W.; TUSTIN, R. C.(Org.) **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. Cape Town: Oxford University Press, 2004. v. 3, p. 1578-1581.

COHEN, N. D. Salmonellosis. In COLAHAN, P. T.; MERRITT, A. M.; MOORRE, J. N. MAYHEN, I. G. (eds). **Equine Medicine and Surgery**, 5<sup>th</sup> edn. St. Louis: Mosby, 1999. p. 749-753.

COIMBRA, H. S. et al. Ehrlichiose monocítica eqüina no Rio Grande do Sul: aspectos clínicos, anátomo-patológicos e epidemiológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 97-101, 2006.

COLLETT, M. G.; MOGG, T. D. Equine salmonellosis. In: COETZER, J. A. W.; TUSTIN, R. C.(Org.) **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. Cape Town: Oxford University Press, 2004. v. 3, cap. 154, p. 1608-1616.

DAGLEISH, M. P.; BENAVIDES, J.; CHIANINI, F. Immunohistochemical diagnosis of infectious diseases of sheep. **Small Ruminant Research**, v. 92, p. 19–35, 2010.

DALLAP SCHAER, B. L.; ACETO, H.; RANKIN, S.C. Outbreak of salmonellosis caused by *Salmonella* enterica serovar Newport MDR-ampC in a large animal veterinary teaching hospital. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 1138–1146, 2010.

DARWIN, K. W.; MILLER, V. L. Molecular Basis of the Interaction of *Salmonella* with the Intestinal Mucosa. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 3, p. 405-428, 1999.

DECESSARO, A. et al. Evolução histórica da classificação e discriminação regional de climas no rio grande do sul – método de köeppen. VI Mostra de Iniciação Científica da Embrapa Trigo, EMBRAPA, 2010. Disponível em:  
< [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do123\\_12.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do123_12.htm)> acesso em 23 jan, 2013.

DIAB, S.S et al., Pathology of *Costridium perfringens* Type C Enterotoxemia in Horse. **Veterinary Pathology**, v. 49, n. 2, p. 255-263, 2012.

- DWYER R. M. Environmental disinfection to control equine infectious diseases **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 203, p. 531-542, 2004.
- EYZAGUIRRE, E.; HAQUE H, K. Apicaltion of Immunohistochemistry to infections. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 132, p. 424-431, 2008.
- FEARY, D. J.; HASSEL, D. M. Enteritis and colitis in horses. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 22, p. 437-479, 2006.
- FERRIS, K. E. et al. *Salmonella* serotypes from animals and related sources reported July 2002-June 2003, 2003, In: **Annual Meeting of the United States Animal Health Association**, 2003, San Diego.p.107-463, 2003.
- FIERER, J.; GUINEY, D. G. Diverse virulence traits underlying different clinical outcomes of *Salmonella* infection. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 107, p. 775-780, 2001.
- GERLACH, R. G. et al. Cooperation of *Salmonella* pathogenicity islands 1 and 4 is required to breach epithelial barriers. **Cellular Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 2364–2376, 2008.
- GIBBONS, D. F. Equine salmonellosis: a review. **Veterinary Record**, v. 106, p. 356-359, 1980.
- GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. Antigenic formulae of the *Salmonella* Serovares. In: **Who Collaborating Centre for reference and research on Salmonella**. 9<sup>th</sup> ed. 2007. Paris, Institut Pasteur, 167p.
- HIRD, D. W. et al. Risk factors for salmonellosis in hospitalized horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 188, p. 173-177, 1986.
- HOUSE, J. K.; SMITH, B. P. *Salmonella* in horse. In WRAY, C.; WRAY, A. (eds) **Salmonella in Domestic Animals**. Oxon: Cabi Publishing, 2000. pp. 219-230.
- HOFER, E. et al. Sorovares de *Salmonella* em carne de equídeos abatidos no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, p. 80-84, 2000.
- HYATT, D. R.; WEESE, J. S. Sampling procedures and laboratory techniques: *Salmonella* cultures. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 20, p. 577-585, 2004.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D; KING, N. W. 1996. Veterinary pathology. 6<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 1392p
- KIM, L. M. et al. Factors associated with *Salmonella* shedding among equine colic patients at a veterinary teaching hospital. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, p. 740–748, 2001.

- LÁZARO, N. S. et al. Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos e perfil plasmidial em *Salmonella Muenster* isoladas de suínos e do ambiente de abatedouros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 65-70, 2004.
- LIBBY, S. J. et al. *Salmonella*. In: GYLES, C.L.; PRESCOTT, J.F.; SONGER, J.G.; THOEN, C.O. (eds). **Pathogenesis of bacterial infections in Animals**, Ames, Iowa :Iowa State University Press, 1993. cap 14, p.143-168.
- MACFADDIN, J. F. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- MADIĆ, J. et al. An outbreak of abortion in mares associated with *Salmonella Abortus-equi* infection. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, n. 3, p. 230-233, 1997.
- MAGDESIAN, K. G. Neonatal Foal Diarrhea. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 21, p. 295–312, 2005.
- McCAIN, S. C.; POWELL, K. C. Asymptomatic salmonellosis in healthy adult horses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 2, p. 236-237, 1990.
- McCOOL, C. J.; GILFEDDER, J. Equine perinatal disease due to *Salmonella Anatum*. **Australian Veterinary Journal**, v. 56, p. 156, 1980.
- McKENZIE, H. C.; MAIR, T. Equine Salmonellosis. In: MAIR, T. S.; HUTCHINSON, R.E.(eds). **Infectious Diseases of the Horse**. 1st ed. Fordham, UK: Equine Veterinary Journal Ltd., 2009.
- McSORLEY, S. J.; COOKSON, B .T.; JENKINS, M. K. Characterization of CD41 T Cell Responses During natural infection with *Salmonella* Typhimurium. **Journal of Immunology**, v. 164, p. 986-993, 2000.
- MELO, U. P. et al. Choque circulatório em equinos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 205-230, 2010.
- MOORE, J. N.; MORRIS, D. M. Endotoxemia and septicemia in horse: experimental and clinical correlates. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 200, n. 12, p. 1903-1914, 1992.
- MORSE, E. V. et al. Salmonellosis in Equidae: a study of 23 cases. **Cornell Veterinarian**, v. 66, p. 198-213, 1976.
- MURRAY, M. J. *Salmonella*: Virulence factors and enteric salmonellosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 189, p. 145-147, 1986
- MURRAY, M. J. Salmonellosis in horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 3, p. 558-560, 1996.
- NEWMAN, S. J.; CONFER, A. W.; PANCIERA R. J. Urinary System. In: McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F(ed). **Pathologic basis of veterinary disease**. 4th ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. p. 613-691.

- OHL, M. E.; MILLER, S. I. *Salmonella*: a model for bacterial pathogenesis. **Annual Review of Medicine**, v. 52, p. 259-274, 2001.
- OLIVEIRA, C. J.; CARVALHO, L. F.; GARCIA, T. B. Experimental airborne transmission of *Salmonella* Agona and *Salmonella* Typhimurium in weaned pigs. **Epidemiology and Infection**, v. 134, n 1, p. 199–209, 2006.
- OLIVER, O. E.; STÄMPFLI, H. Acute diarrhea in the adult horse: Case example and review. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 22, p. 73-84, 2006.
- OWEN, R. A. P. et al. Studies on Experimental Enteric Salmonellosis in Ponies. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 43, p. 247-254, 1979.
- PARKER, M. T. In: WILSON, G. S.; MILES, A. A., PARKER, M. T.(eds). **Topley and wilson's Principles of Bacteriology, virology and Immunity**. 7<sup>th</sup> edn. Vol II. Londow: Edward Arnold. 1983.
- PATTERSON-KANE, J. C. et al. Meningoencephalomyelitis in a foal due to *Salmonella* Agona infection. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 49, n. 4, p. 159-61, 2001.
- PIEREZAN, P. **Prevalência das doenças de equinos no Rio Grande do Sul**. 2009. 163f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009a.
- PIEREZAN, P. et al. Enterite granulomatosa associada a larvas de ciatostomíneos em eqüinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 382-386, 2009b.
- PROPHET E. B. et al. **Laboratory Methods in Histotechnology, Armed Forces Institute of Pathology**, Washington: American Registry of Pathology, 1992. 279p.
- QUINN, P. J. et al. **Veterinary Microbiology and microbial diseases**, 2º end Iowa: wiley-blackwell, 2011. cap 24, p. 263-286.
- RADOSTITS, O. M. et al. Diseases associated with *Salmonella* species. In: Ibid. (Eds), **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10<sup>th</sup>, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. p. 896-921.
- RADKE, B. R.; MCFALL, M.; RADOSTITS, S. M. *Salmonella* Muenster infection in a dairy herd. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 43, p. 443–453, 2002.
- RIBEIRO M. G. et al. Caracterização de sorotipos em linhagens do gênero *Salmonella* isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 155-160, 2010.
- ROBERTS, M. C.; O'BOYLE, D. A. The prevalence and epizootiology of salmonellosis among groups of horse in south east Queensland. **Australian Veterinary Journal**, v. 57, p. 27-35, 1981.

- ROBERTS, M. C.; O'BOYLE, D. A. Experimental *Salmonella* Anatum infection in horses. **Australian Veterinary Journal**, v. 58, n. 6, p. 232-40, 1982.
- ROTH, L. Equine Diarrhea. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 8, n. 1, p. 77, 1988.
- SANTOS, R. L. et al. Pathogenesis of *Salmonella*-induced enteritis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 3-12, 2003.
- SCHAUSER, K.; OLSEN, J. E.; LARSSON, L. I. Immunocytochemical studies of *Salmonella* Typhimurium invasion of porcine jejunal epithelial cells. **Journal of Medical Microbiology**, v. 53, p. 691-695, 2004.
- SCHOTT, H. C. et al. An outbreak of salmonellosis among horses at a veterinary teaching hospital. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 7, p. 1152–1159, 2001.
- SMITH, B. P.; REINA-GUERRA, M.; HARDY, B. S. Prevalence and epizootiology of equine salmonellosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 172, p. 353-356, 1978.
- SMITH, B. P. Atypical salmonellosis in horses: Fever and depression without diarrhea. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 175, p. 69-71, 1979.
- SMITH B. P. Equine salmonellosis: a contemporary view. **Equine Veterinary Journal**, v. 13, n. 3, p. 147-51, 1981.
- SWIDERSKI, C. E. Overview of anaphylactic shock in horses. **Compendium on Continuing Education for in Practicing Veterinary**, Trenton, v. 22, n. 1, p. 84-85; 91-92, 2000.
- TRAUB-DARGATZ, J. L.; BESSER, T. E. Salmonellosis. In: SELTON, D. C.; LONG, M. T.(eds) **Equine Infectious Diseases**. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. cap. 38, p.331-345.
- WALKER, R. L. et al. An outbreak of equine neonatal salmonellosis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 3, p. 223-227, 1991.
- WALKER, R. L. et al. Genotypic and phenotypic analysis of *Salmonella* strains associated with an outbreak of equine neonatal salmonellosis. **Veterinary Microbiology**, v. 43, n. 2–3, p. 143–150, 1995.
- WARNER, S. L. et al. Clinical, pathological, and genetic characterization of *Listeria monocytogenes* causing sepsis and necrotizing typhlocolitis and hepatitis in a foal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 3, p. 581–586, 2012.
- WATANABE, T. T. N. et al. Rectal stenosis in pigs associated with *Salmonella* Typhimurium and porcine circovirus type 2 (PCV2) infection. **Pesquisa Vetetária Brasileira**, v. 31, n. 6, p. 511-515, 2011.

WEESE, J. S. A Review of Equine Zoonotic Diseases: Risks in Veterinary Medicine. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, p.48. 2002.

WENKOFF, M. S. *Salmonella* Thyphimurium septicemia in foals. **Canadian Veterinary Journal**, v. 14, p. 284-287, 1973.

WHITLOCK, R. H. Colitis: Differential diagnosis and treatment. **Equine Veterinary Journal**, v. 18, p. 278-283, 1986.