

1
2 **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
3 **FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**
4 **DEPARTAMENTO DE CLÍNICA VETERINÁRIA**
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

17 **ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E DETECÇÃO POR PCR**
18 **EM TEMPO REAL (qPCR) DE SALMONELLA SPP. EM AMOSTRAS FECAIS**
19 **DE POTROS COM E SEM DIARREIA**
20
21

22 **POLLYANA RENNÓ CAMPOS BRAGA**
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43

44 **BOTUCATU-SP**
45 **2021**
46

47
48 **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
49 **FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**
50 **DEPARTAMENTO DE CLÍNICA VETERINÁRIA**
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61

62
63 **ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E DETECÇÃO POR PCR**
64 **EM TEMPO REAL (qPCR) DE SALMONELLA SPP. EM AMOSTRAS FECAIS**
65 **DE POTROS COM E SEM DIARREIA**
66
67

68 **POLLYANA RENNÓ CAMPOS BRAGA**
69
70
71
72
73
74
75

76 Tese apresentada junto ao Programa
77 de Pós-Graduação em Medicina
78 Veterinária para obtenção do título de
79 Doutor.
80

81
82
83
84
85
86
87 Orientador: Prof. Dr. Alexandre Secorun Borges
88 Co-orientador: Prof. Dr. José Paes de Oliveira Filho
89

90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCN. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Braga, Pollyana Rennó Campos.

Isolamento, caracterização molecular e detecção por PCR em tempo real (qPCR) de *Salmonella spp.* em amostras fecais de potros com e sem diarreia / Pollyana Rennó Campos Braga. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Alexandre Secorun Borges
Coorientador: José Paes de Oliveira Filho
Capes: 50501062

1. Equinos. 2. Potros. 3. Salmonella. 4. Diarreia.
5. Reação em cadeia da polimerase.

Palavras-chave: Brasil; Equinos; Fezes; InvA;
Multirresistência; *Salmonella spp*; Sorovares.

115

116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157

Nome do Autor: Pollyana Rennó Campos Braga

Título: ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E DETECÇÃO POR
PCR EM TEMPO REAL (qPCR) DE SALMONELLA SPP. EM AMOSTRAS FECAIS
DE POTROS COM E SEM DIARREIA

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Ass. Dr. Alexandre Secorun Borges
Presidente e Orientador
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ-UNESP- Botucatu/SP

Prof. Dr. Danilo Giorgi Abranches de Andrade
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ-Unesp-Botucatu/SP

Prof. Ass. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira
Membro
Departamento de Clínicas Veterinárias
Universidade federal de Pelotas – Pelotas/RS

Profa. Dra. Thaís Gomes Rocha
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
Universidade de Vila Velha- Vila Velha/ES

Pesquisadora Dra. Alessandra Figueiredo de Castro Nassar
Membro
Departamento de Bacteriologia Geral
Instituto Biológico de São Paulo- São Paulo/SP

Data da defesa: 29 de novembro de 2021.

DEDICATÓRIA

158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173

Dedico a minha tese ao meu marido Vítor e às minhas filhas: Ana Beatriz e Cecília que deram sentido especial à minha existência e que sempre me proporcionam grandes momentos de alegria.

“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe”

Clarice Lispector

174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192

AGRADECIMENTOS

193

194

195 Ao meu marido Vítor e às minhas filhas Ana Beatriz e Cecília por todo amor,
196 companheirismo, paciência e pelo porto seguro de todas as horas.

197

198 Aos meus pais Maria da Graça e Marcelo e à minha irmã Audrey alicerce da
199 vida e de todas as minhas conquistas.

199

Ao Prof. Alexandre, pela orientação, amizade e pela confiança depositada.

200

201 À banca examinadora desta tese pela presteza e pelas contribuições necessárias
202 para sua adequação e aprimoramento.

202

203 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa
204 de doutorado. O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de
205 Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Código de Financiamento
170140/2018-0.

206

207 Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, aos professores e
208 funcionários, pelas orientações e pela ajuda no transcorrer do doutorado.

208

209 A todos os pesquisadores envolvidos e que permitiram que esta tese se
concretizasse:

210

- Instituto Adolfo Lutz: Dra. Monique Tibas e Dra. Ariadne

211

- Unesp/Botucatu: Roberta, Fabrício, Danilo, Prof. José Filho, Prof. Fábio

212

- Possebon, Prof. Márcio Garcia, Prof. Juliano Pereira, Lorryne, Fernando, Prof.

213

- Artur Pantoja, Prof. João Pessoa

214

- Instituto Biológico de São Paulo: Dra. Alessandra Nassar

215

- Laboratório Zoológica: Dra. Carmem, Beatriz, Danilo

216

- Laboratório Jaguary: Marise, Rodrigo, Gabriela

217

- LDMVET: Camila, Ariane

218

A todos os veterinários que me auxiliaram e permitiram a coleta das amostras:

219

Fábio, Kelly, Benedito Carlos, Matheus, Rodolfo, Patrícia, Júlia, Alexandre, Amanda,

220

Karina, Ana Gorino, Ana Paula, Mauricio, Anselmo, Thiago, André, Milena, Renata,

221

Luca, Cristiano, Rosemeire, Julia, Rodolfo, Luis Henrique, Leandro, Bruno, Wilson,

222

Bernando, Thaís, Rafaela, José, Alexandre, Henrique, Maurício, Raul, Norberto,

223

Marcelo, Bárbara, Guilherme, Victor, Bruno, Mayara, Guilherme Soares, Lara, Glenn,

224

Camila, Talita, Lucas, Ariane e Flavia.

TABELA 1.	Distribuição do número de sorovares de acordo com espécie e subespécie de <i>Salmonella</i> spp.....	31
TABELA 2.	Especificidade e Sensibilidade das diferentes técnicas de PCR e qPCR empregadas no diagnóstico de <i>Salmonella</i> spp.....	92
TABELA 3.	Estudos realizados em amostras clínicas comparando a prevalência de <i>Salmonella</i> spp. através das técnicas de biologia molecular (PCR e q-PCR) e cultivo bacteriológico.....	93
TABELA 4.	Principais antimicrobianos utilizados para o tratamento de animais segundo pesquisas realizadas pelo USDA, ESVAC e OIE.....	100
TABELA 5.	Número total de animais, número de potros nascidos ao ano e de animais coletados por propriedade nos 25 municípios do Estado de São Paulo, pertencentes as 16 Regiões Geográficas Imediatas para o diagnóstico de <i>Salmonella</i> spp. Botucatu, SP, 2021.....	121
TABELA 6.	Distribuição dos animais coletados por localização geográfica, propriedade e sintomatologia clínica. Botucatu, SP, 2021.....	122
TABELA 7.	Distribuição dos animais coletados por raça, nº de propriedades e sintomatologia clínica. Botucatu, SP, 2021.....	124
TABELA 8.	Distribuição dos animais coletados por idade e sintomatologia clínica. Botucatu, SP, 2021.....	124
TABELA 9.	Distribuição dos números de animais detectados como positivos para <i>Salmonella</i> spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pelo status de saúde.....	136
TABELA 10.	Distribuição dos números de animais detectados como positivos para <i>Salmonella</i> spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pela idade (meses).....	137
TABELA 11.	Distribuição dos números de animais detectados como positivos para <i>Salmonella</i> spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pelo gênero.....	137

TABELA 12.	Distribuição dos números de animais detectados como positivos para <i>Salmonella</i> spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pela raça.....	138
TABELA 13.	Distribuição dos números de animais detectados como positivos para <i>Salmonella</i> spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pela disposição nas propriedades no momento da coleta da amostra de fezes.....	139
TABELA 14.	Distribuição dos números de animais classificados de acordo com os resultados obtidos nas técnicas de qPCR e cultivo bacteriológico.....	145
TABELA 15.	Características epidemiológicas dos animais identificados como negativos na técnica de qPCR e que obtiveram resultado positivo para <i>Salmonella</i> spp. no cultivo bacteriológico. Botucatu,2021.....	146
TABELA 16.	Distribuição dos sorovares classificados como negativos para <i>Salmonella</i> spp. de acordo com técnica de qPCR empregada. Botucatu, 2021.....	147
TABELA 17.	Distribuição dos números de animais detectados como positivos para <i>Salmonella</i> spp. de acordo com a técnica de qPCR empregada no diagnóstico e classificados segundo a instituição de antibioticoterapia em momento anterior a coleta da amostra.....	147

227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243

244
245
246

LISTA DE QUADROS

- QUADRO 1.** Causas infecciosas e não infecciosas de diarreia em potros classificados de acordo com a faixa etária dos animais acometidos.....19
- QUADRO 2.** Testes diagnóstico utilizados para agentes causadores de diarreia em potros.....26
- QUADRO 3.** Características Bioquímicas da bactéria *Salmonella* spp.....29
- QUADRO 4.** Principais mecanismos de resistência das enterobactérias aos antimicrobianos utilizados atualmente em humanos e animais.....53
- QUADRO 5.** Classificação dos antimicrobianos e concentração dos discos de antibiograma utilizados no teste de sensibilidade aos antimicrobianos “in vitro”, conforme critérios estabelecidos pelo CLSI humano e CLSI veterinário.....116
- QUADRO 6.** Sequência de oligonucleotídeos para os genes das enzimas produtoras de β -lactamases.....117
- QUADRO 7.** Sequência de oligonucleotídeos para o gene *invA*..... 119
- QUADRO 8.** Perfil fenotípico de resistência aos antimicrobianos e característica de produção de enzimas dos sorovares de *Salmonella* spp. que apresentaram resistência aos antimicrobianos testados no estudo. São Paulo, 2021.....130
- QUADRO 9.** Perfil fenotípico de resistência aos antimicrobianos, dos 13 sorovares de *Salmonella* spp. que apresentaram característica de multirresistência aos 24 antimicrobianos testados. São Paulo, 2021.....131
- QUADRO 10.** Classificação dos sorovares de *Salmonella* spp. identificados no estudo de acordo com o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, característica de produção de enzimas, sinais clínicos, localização, idade, raça e gênero dos animais. Botucatu, 2021.....132

247
248
249
250
251

252
253

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Classificação da bactéria <i>Salmonella</i> spp. em espécies e subespécies.....	30
FIGURA 2.	Patogenia <i>Salmonella</i> spp. após infecção por via oral.....	38
FIGURA 3.	Diagrama dos mecanismos envolvidos na diarreia por <i>Salmonella</i> spp.....	40
FIGURA 4.	Fluxograma de isolamento de <i>Salmonella</i> spp. em amostras fecais.....	84
FIGURA 5.	Coleta de fezes direto da ampola retal.....	113
FIGURA 6.	Acondicionamento do material em tubo coletor estéril.....	113
FIGURA 7.	Suabes confeccionados com as amostras de fezes colhidas.....	114
FIGURA 8.	Amostras cultivadas em Ágar SS.....	114
FIGURA 9.	Caracterização Bioquímica.....	114
FIGURA 10.	Linhagens caracterizadas, acondicionadas em meio Lignieris.....	114
FIGURA 11.	Potros coletados da Propriedade 23.....	121
FIGURA 12.	Potros coletados da Propriedade 4.....	121
FIGURA 13.	Potro coletado da Propriedade 11.....	122
FIGURA 14.	Potro coletado da Propriedade 1.....	122
FIGURA 15.	Localização dos municípios do Estado de São Paulo amostrados durante o estudo.....	123

254
255
256
257
258
259
260
261
262

LISTA DE GRÁFICOS

263
264
265

- GRÁFICO 1.** Antimicrobianos utilizados no tratamento dos animais com diarreia participantes do estudo.....125
- GRÁFICO 2.** Frequencia de detecção dos sorovares determinados através do método White-Kauffman-LeMinor. São Paulo, 2021.....126
- GRÁFICO 3.** Perfil fenotípico de sensibilidade dos sorovares de *Salmonella* spp. em animais com e sem diarreia, aos 24 antimicrobianos testados no estudo. São Paulo, 2021.....127

266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276

277

278

279

280

281

282
283
284
285
286
287
288

SUMÁRIO

289

290

Página

291	RESUMO.....	14
292	ABSTRACT.....	15
293	1 INTRODUÇÃO.....	16
294	2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
295	2.1 Diarreia em potro.....	18
296	2.2 <i>Salmonella</i> spp. em potros.....	28
297	2.3 Fatores de virulência.....	32
298	2.4 Patogenia.....	35
299	2.5 Diarreia e Inflamação.....	39
300	2.6 Imunidade a infecção.....	41
301	2.7 Resistência aos componentes da imunidade inata.....	46
302	2.8 Susceptibilidade e genética.....	47
303	2.9 Resistência aos antimicrobianos.....	48
304	2.9.1 Destruição ou inativação enzimática da droga.....	49
305	2.9.2 β -lactamases de espectro estendido.....	49
306	2.9.3 β -lactamases do tipo AmpC.....	50
307	2.9.4 Bloqueio da entrada no sítio-alvo.....	52
308	2.9.5 Alteração do sítio-alvo.....	52
309	2.9.6 Efluxo e ejeção do antimicrobiano.....	52
310	2.10 Epidemiologia.....	54
311	2.11 Prevalência.....	63
312	2.12 Sinais Clínicos.....	68
313	2.12.1 Infecções assintomáticas.....	69
314	2.12.2 Febre, anorexia e depressão.....	69
315	2.12.3 Diarreia Aguda.....	70
316	2.12.4 Septicemia aguda e combinação com diarreia.....	71
317	2.13 Patologia Clínica.....	74
318	2.14 Alteração “post mortem”.....	76
319	2.15 Exame Clínico.....	77
320	2.16 Exames por Imagem.....	78
321	2.17 Diagnóstico.....	79

322	2.18 Cultivo Bacteriológico de Fezes.....	80
323	2.19 Reação em Cadeia da Polimerase – PCR.....	85
324	2.20 Tratamento.....	94
325	2.21 Perfil de resistência aos antimicrobianos de isolados de <i>Salmonella</i> spp. em	
326	Equinos.....	97
327	2.22 Ocorrência de Sorovares de <i>Salmonella</i> spp. em equinos.....	104
328	2.23 Fundamentos do controle da infecção.....	106
329	3 OBJETIVOS DO TRABALHO.....	111
330	4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	112
331	4.1 Comitê de Ética.....	112
332	4.2 Grupos Experimentais.....	112
333	4.3 Cultivo bacteriológico.....	113
334	4.4 Sorotipificação.....	114
335	4.5 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos “in vitro”.....	114
336	4.6 Detecção e caracterização dos genes produtores de enzimas β -	
337	lactamases.....	115
338	4.6.1 Extração do DNA bacteriano.....	117
339	4.6.2 Detecção e caracterização dos genes produtores de enzimas β -	
340	lactamases.....	117
341	4.6.3 Eletroforese em gel de agarose.....	117
342	4.7 Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR).....	118
343	4.7.1 Extração do DNA.....	118
344	4.7.2 Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) para	
345	<i>Salmonella</i> spp.....	118
346	4.8 Análise Estatística.....	119
347	5 RESULTADOS.....	120
348	5.1 Grupos Experimentais.....	120
349	5.2 Cultivo bacteriológico.....	124
350	5.3 Sotoripificação.....	126
351	5.4 Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos “in vitro”.....	126
352	5.5 Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR).....	133
353	6 DISCUSSÃO.....	148
354	7 CONCLUSÃO.....	160
355	8 BIBLIOGRAFIA.....	162
356		

357 BRAGA, P.R.C. **Isolamento, caracterização molecular e detecção por PCR em**
358 **tempo real (qPCR) de *Salmonella* spp. em amostras fecais de potros com e sem**
359 **diarreia.** Botucatu, 2021. 179p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária
360 e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

361

362 **RESUMO**

363

364 O presente estudo investigou a ocorrência de *Salmonella* spp. em fezes de 200 potros
365 com até 1 ano de idade, através das técnicas de cultivo bacteriológico e PCR em tempo
366 real (qPCR) pelos métodos de corante fluorescente (SYBR[®] Green) e sonda específica
367 (Taqman[®]) para o gene *invA* com e sem etapa de pré-enriquecimento seletivo em
368 tetracionato. Sorotipificação, testes de sensibilidade antimicrobiana e análise genética
369 para a presença de genes produtores de β-lactamases foram realizados. Houve a
370 identificação dos sorovares: *S. Infantis*, *S. Minnessota*, *S. I.4,5,12:i:-*; *S. Anatum*, *S.*
371 *Cerro*, *S. Oranienburg*, *S. I.4,12:d:-*, *S. Braenderup*, *S. Give*, *S. Newport*, *S. I.6,8:-:-*,
372 *S.IIIb 61:c:z35*, *S.IO9:-:1,5*. O cultivo bacteriológico revelou 15% (n=30) de animais
373 positivos (21 animais com diarreia e 9 de animais sem diarreia). Multirresistência foi
374 constatada em 43,33% (n=13) dos isolados. A análise genética revelou 10 isolados
375 (33,3%) produtores de β-lactamases. Houve superioridade dos resultados positivos pela
376 qPCR em relação ao cultivo bacteriológico. O método de qPCR SYBR[®] com
377 tetracionato apresentou 22,5% (n=45) de animais positivos, qPCR Taqman[®] com
378 tetracionato identificou 22% de animais positivos (n=44), qPCR SYBR[®] sem
379 tetracionato obteve 24% (n=48) de animais positivos e a qPCR Taqman[®] sem
380 tetracionato evidenciou 20% (n=40) de animais positivos. Os resultados confirmaram a
381 utilidade do método qPCR sem a etapa de pré-enriquecimento em tetracionato, como um
382 teste rápido para detecção de *Salmonella* spp. em animais portadores ou em animais
383 com sinais clínicos de diarreia, associado ao cultivo bacteriológico para a realização do
384 teste de sensibilidade aos antimicrobianos e sorotipificação.

385 **Palavras-chave:** fezes, sorovares, equinos, *Salmonella* spp., *invA*, multirresistência,
386 Brasil

387

388

389 BRAGA, P.R.C. **Isolation, molecular characterization and detection by real time**
390 **PCR (qPCR) of *Salmonella* spp. in fecal samples of foals with and without**
391 **diarrhea.** Botucatu, 2021. 179p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina
392 Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

393

394 **ABSTRACT**

395

396 This study has investigated the occurrence of *Salmonella* spp. in fecal samples from 200
397 foals up to one year of age. Feces have been tested for *Salmonella* spp. by microbiologic
398 culture and TaqMan[®] and SYBR[®] Green real time polymerase chain reaction (qPCR)
399 methods for *invA* gene with and without pre-enrichment in tetrathionate. *Salmonella*
400 spp. strains have been serotyped, antimicrobial susceptibility profiles have been
401 analyzed and the presence of β -lactamase genes have been evaluated. *Salmonella* spp.
402 was isolated in 30 (15%) horses (21 horses with diarrhea and nine horses without
403 diarrhea. *Salmonella* spp. serotypes have been identified: *S. Infantis*, *S. Minnesota*, *S.*
404 *I.4,5,12:i:-*; *S. Anatum*, *S. Cerro*, *S. Oranienburg*, *S. enterica* subsp *enterica* 4,12:d:-, *S.*
405 *Braenderup*, *S. Give*, *S. Newport*, *S. enterica* subsp. *enterica* 6,8:-:-, S.IIIb 61:c:z35,
406 S.IO9:-:1,5. Multiresistance has been observed in 43,33% (n=13) of bacterial isolates.
407 Genetic analyses have revealed 10 bacterial isolates (33,3%) β -lactamases producers.
408 There were high superiority of positive qPCR results compared to bacterial culture
409 results. The qPCR SYBR[®] Green with tetrathionate has showed 22,5% (n=45) of
410 positive animals, qPCR Taqman[®] with tetrathionate has exhibited 22% (n=44) of
411 positive animals, qPCR SYBR[®] Green without tetrathionate has identified 24% (n=48)
412 of positive animals and the qPCR Taqman[®] without tetrathionate has identified 20%
413 (n=40) of positive animals. The results have confirmed the utility of qPCR method as a
414 rapid test for detection of *Salmonella* spp. in animal carriers or in animals with clinical
415 signs of diarrhea, associated with bacterial culture for antimicrobial susceptibility
416 testing and serotyping data.

418 **Keywords:** feces, serovars, equine, *Salmonella* spp., *invA*, multiresistance, Brazil.

419

420

421

422

423

424 1. INTRODUÇÃO

425

426 A diarreia é um dos problemas mais comuns em potros, com até 80% dos
427 animais experimentando um ou mais episódios de diarreia durante os primeiros seis
428 meses de vida (Palmer e Benson, 1984; Dunkel e Wilkins, 2004; Frederick et al., 2009).
429 As causas de diarreia em potros podem ser divididas em infecciosas e não infecciosas
430 (Dunkel e Wilkins, 2004; Slovis et al., 2014; Olivo et al., 2016). Nos primeiros seis
431 meses de vida, até 20% dos potros apresentam diarreia de origem infecciosa (Slovis et
432 al., 2014). Contudo, há um limitado entendimento sobre a prevalência e a importância
433 clínica dos agentes infecciosos, assim como dos mecanismos das coinfeções nos casos
434 de diarreia em potros (Netherwood et al., 1996; Frederick, 2009; Oliver-Spinosa, 2018;
435 Slovis et al., 2014).

436 *Salmonella* spp. possui um impacto significativo no manejo das instalações de
437 animais. O manejo desse micro-organismo, continua um desafio, sendo atualmente uma
438 das causas mais comuns de surtos de infecções nosocomiais e fechamento de hospitais
439 de equinos ao redor do mundo (Morse et al., 1976; Roberts e O' Boyle, 1981; Hird et
440 al., 1984; Ikeda e Hirsh, 1985; Palmer et al., 1985; Carter et al., 1986; Begg et al., 1988;
441 Castor et al., 1989; Cohen et al., 1996; Hartman et al., 1996; Tillotson et al., 1997; Ewart
442 et al., 2001; Schott et al., 2001; Ward et al., 2005; Martelli et al., 2018). A manutenção
443 de animais de diferentes origens juntos também é comum em haras, centros de
444 treinamentos, centrais de reprodução, provas equestres e, é associado ao aumento do
445 risco de disseminação de agentes infecciosos e de significativa contaminação ambiental.
446 Animais que retornam de hospitais veterinários ou de outros locais podem servir como
447 fontes de infecção aos outros cavalos. O controle de *Salmonella* spp. é complicado pela
448 existência de animais portadores assintomáticos que eliminam os micro-organismos na
449 ausência de sinais clínicos da doença. Além disso, há um limitado conhecimento da
450 epidemiologia da doença em animais a campo. Muito do que se sabe sobre a
451 epidemiologia da salmonelose na população de equinos advém de estudos realizados em
452 população de animais hospitalizados, infecções experimentais, dos dados colhidos de
453 animais de alto risco ou em períodos de epidemias da doença. Infecções experimentais
454 não refletem o que ocorre a campo. Consequentemente, a extrapolação dos dados
455 experimentais para a ocorrência da doença a campo é limitada. São extensos os relatos
456 na literatura de casos de salmonelose durante surtos em hospitais veterinários ao redor

457 do mundo com elevadas taxas de morbidade e mortalidade, fontes de infecção em
458 comum, fechamento do centro de referência e instituição de medidas intensivas de
459 descontaminação (Roberts e O' Boyle, 1981; Hird et al., 1984; Ikeda e Hirsh, 1985;
460 Palmer et al., 1985; Carter et al., 1986; Begg et al., 1988; Castor et al., 1989; Cohen et
461 al., 1996; Hartman et al., 1996; Tillotson et al., 1997; Ewart et al., 2001; Schott et al.,
462 2001; Ward et al., 2005; Martelli et al., 2018). Porém, são escassas as informações na
463 população geral de animais e, especialmente, a ocorrência do micro-organismo como
464 agente causador de diarreia em potros (Browning et al., 1991; Netherwood et al., 1996;
465 Harris et al., 2012; Olivo et al., 2016; Haq et al., 2018; Slovis et al., 2014).

466 No Brasil, estudos abrangentes de salmonelose em equinos são escassos, sendo
467 encontrados relatos de casos (Hayashi et al., 2017; Oliveira et al., 2019), estudos
468 realizados em abatedouros (Hofer et al., 2000), em animais “*post mortem*” (Juffo et al.,
469 2016; Ferreira et al., 2019) ou com um número reduzido de animais envolvidos (Ribeiro
470 et al., 2010; Olivo et al., 2016).

471 Além disso, dados sobre prevalência e perfil de sensibilidade antimicrobiana de
472 isolados de *Salmonella* spp. são raros em nosso país (Ribeiro et al., 2010; Ferreira et al.,
473 2019; Oliveira et al., 2019). As investigações sobre a ocorrência de *Salmonella* spp. em
474 potros a campo não são frequentemente encontradas na literatura, sendo realizados no
475 Reino Unido (Browning et al., 1991; Netherwood et al., 1996), Trinidad e Tobago
476 (Harris et al., 2012), Brasil (Olivo et al., 2016), Paquistão (Haq et al., 2018) e Estados
477 Unidos (Slovis et al., 2014). Grande parte da literatura sobre salmonelose em equinos é
478 focada na descrição de surtos em hospitais veterinários e métodos de controle da
479 infecção nesses locais pós surto (Morse et al., 1976; Roberts e O' Boyle, 1981; Hird et
480 al., 1984; Ikeda e Hirsh, 1985; Palmer et al., 1985; Carter et al., 1986; Begg et al., 1988;
481 Castor et al., 1989; Cohen et al., 1996; Hartman et al., 1996; Tillotson et al., 1997;
482 Ewart et al., 2001; Schott et al., 2001; Ward et al., 2005; Martelli et al., 2018).

483 A detecção de *Salmonella* spp. na prática equina pode ser desafiadora, em parte
484 devido às limitações das ferramentas de diagnóstico disponíveis e, pela presença de
485 animais portadores assintomáticos que caracteristicamente eliminam pequenas
486 quantidades de micro-organismos nas fezes de forma intermitente. Independentemente
487 da sensibilidade analítica do teste utilizado, essas características fazem com que o
488 sistema de detecção geral (tipo de amostra combinado com o processamento da amostra e
489 sistema de detecção utilizado) tenha uma sensibilidade epidemiológica mais baixa, ou
490 seja, menor probabilidade de detecção de animais verdadeiramente infectados e

491 eliminadores. Os testes normalmente utilizados requerem técnicas de enriquecimento e
492 testes de múltiplas amostras o que atrasa o diagnóstico e a implementação de medidas
493 terapêuticas e preventivas eficientes. As técnicas de biologia molecular apresentam
494 elevada sensibilidade e já tiveram uso validado para o diagnóstico de salmonelose
495 gastrointestinal havendo aumento na sua utilização para o diagnóstico de salmonelose
496 (Gal-Mor, 2019). A tecnologia de amplificação do DNA é uma necessidade quando se
497 trabalha com baixos números de bactérias a serem detectados diretamente em técnicas
498 de culturas padrões. A instituição de técnicas de elevada sensibilidade e especificidade
499 com maior rapidez dos resultados é importante no processo de identificação de animais
500 portadores, assim como para o diagnóstico dos animais com diarreia (Sibley et al.,
501 2003). A detecção precoce de animais eliminadores, com diarreia ou de contaminação
502 ambiental permite a implementação de medidas sanitárias mais eficazes para o controle
503 das infecções entre os animais e a transmissão zoonótica (Sibley et al., 2003).

504

505 **2. REVISÃO DE LITERATURA**

506

507 **2.1 Diarreia em Potros**

508

509 A diarreia é definida como um aumento da frequência, fluidez ou volume das
510 fezes sendo problema comum na clínica de equinos (Palmer et al., 1985). A diarreia é
511 um dos problemas mais comuns em potros, com até 80% dos animais experimentando
512 um ou mais episódios de diarreia durante os primeiros seis meses de vida (Palmer e
513 Benson, 1984; Dunkel e Wilkins, 2004; Frederick et al., 2009). Embora a morbidade
514 seja alta a mortalidade é baixa (Palmer e Benson, 1984). A maioria dos potros apresenta
515 diarreia auto-limitante (Palmer e Benson, 1984; Magdesian, 2005), podendo ser fatal em
516 animais gravemente desidratados. Potros convalescentes e debilitados são mais
517 susceptíveis a outras doenças infecciosas (Netherwood et al., 1996). Embora seja um
518 problema frequentemente transitório, pode causar significativas perdas econômicas
519 podendo a dor abdominal, anunciar o início de uma desordem que pode ser fatal
520 (Dunkel e Wilkins, 2004). Os sinais clínicos iniciais incluem apatia, anorexia, depressão
521 no reflexo de sucção, salivação, bruxismo, perda de peso, febre ou hipotermia. Potros
522 com enterite e enterocolite desenvolvem variados graus de endotoxemia e sofrem
523 inúmeras complicações metabólicas incluindo acidose, choque hipovolêmico,

524 hipotensão e bacteremia, podendo levar os animais sensíveis à morte em um curto
525 espaço de tempo (Magdesian, 2005; Oliver-Spinosa, 2018).

526 As causas de diarreia em potros podem ser divididas em infecciosas e não
527 infecciosas (Dunkel e Wilkins, 2004; Slovis et al., 2014; Olivo et al., 2016) (Quadro 1).

528

529 **QUADRO 1. Causas infecciosas e não infecciosas de diarreia em potros classificados de**
530 **acordo com a faixa etária dos animais acometidos.**

Diarreia Infecciosa	Faixa Etária
Infecção viral	
Rotavírus	< 2 semanas a 6 meses de idade
Coronavirus (potros imunossuprimidos)	< 2 semanas a 6 meses de idade
Infecção Bacteriana	
<i>C. perfringens</i> tipo A e C	< 2 semanas a 6 meses de idade
<i>C. difficile</i>	< 2 semanas a 6 meses de idade
<i>Salmonella</i> spp.	Todas as idades
<i>Campylobacter</i> spp.	> 2 semanas a 6 meses de idade
<i>Rhodococcus equi</i>	> 6 semanas a 6 meses de idade
<i>Lawsonia intracellularis</i>	> 6 semanas a 6 meses de idade
Infecção Fúngica	
<i>Candida</i> spp. (potros imunossuprimidos)	< 2 semanas a 6 meses de idade
<i>Mucor</i> spp. (potros imunossuprimidos)	< 2 semanas a 6 meses de idade
Infecção por Protozoário	
<i>Cryptosporidium</i> spp	< 2 semanas e 6 meses de idade
Infecção Parasitária	
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Strongyloides westeri</i>, • <i>Parascaris equorum</i> • <i>Strongylus vulgaris</i> 	> 2 semanas a 6 meses de idade

531

Diarreia Não-Infecciosa	Faixa Etária
Cio do potro	< 2 semanas de idade
Secundária a impactação de mecônio	< 2 semanas de idade
Mau-ajustamento	< 2 semanas de idade
Diarreia dietética	< 2 semanas a 6 meses de idade
Ulceração Gástrica	< 2 semanas a 6 meses de idade
Antibioticoterapia	> 2 semanas a 6 meses de idade
Intolerância congênita a lactose	Todas as idades
Irritação luminal	Todas as idades

532 Continuação: Adaptado de Oliver-Espinosa O., 2018 e Dunkel e Wilkins, 2004

533

534 Dentre as causas não infecciosas destacam-se a diarreia do cio do potro, síndrome
535 da asfixia perinatal, intolerâncias alimentares, ingestão de areia e ulceração
536 gastroduodenal (Frederick et al., 2009; Oliver-Spinosa, 2018). Nos primeiros seis meses
537 de vida, até 20% dos potros apresentam diarreia de origem infecciosa (Slovis et al.,

538 2014). Os agentes infecciosos mais comumente identificados como causadores de
539 diarreia aguda em potros incluem *Clostridium perfringens* tipo A e tipo C, *Clostridium*
540 *difficile*, Rotavírus, *Salmonella* spp., *Cryptosporidium parvum* e *Lawsonia*
541 *intracellularis* (Cohen et al., 1996; Netherwood et al., 1996; Weese et al., 1999; Guy et
542 al., 2000; Tillitson et al., 2002;; Magdesian et al., 2002; Dunkel & Wilkins, 2004;
543 Smith, 2008; Wohlfender et al., 2009; Olivo et al., 2016). Outros agentes menos
544 comumente associados a diarreia aguda em potros incluem: *Strongyloides westeri*,
545 Coronavírus, *Rhodococcus equi*, *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus durans*,
546 *Neorickettsia risticii*, *Bacterioides fragilis* e *Listeria monocytogenes* (Browning et al,
547 1991; Sellon e Long, 2007; Reed et al., 2010; Olivo et al., 2016).

548 Contudo, há limitado entendimento sobre a prevalência e a importância clínica
549 dos agentes infecciosos, assim como dos mecanismos das coinfeções nos casos de
550 diarreia em potros (Netherwood et al., 1996; Frederick, 2009; Oliver-Spinosa, 2018;
551 Slovis et al., 2014). As coinfeções entre agentes infecciosos podem contribuir para o
552 agravamento do distúrbio gastrointestinal (Slovis et al., 2014; Olivo et al., 2016).

553 Nos Estados Unidos, 6,4% dos potros com até 30 dias de idade morreram por problemas
554 digestivos como diarreia (USDA, 2006). Neste mesmo país, estudo sobre a etiologia da
555 diarreia em potros foi realizado em 493 potros saudáveis e com diarreia em um período
556 de 3 anos na região central de Kentucky. Mais de 70% dos animais em algumas
557 propriedades apresentaram diarreia e acima de 50% dos potros com diarreia foram
558 positivos para rotavírus (Dwyer et al., 1990).

559 Estudo de prevalência de patógenos entéricos em 77 potros sem diarreia e 326
560 potros com diarreia do nascimento até 3 meses de idade na Inglaterra e Irlanda durante
561 os anos de 1987 a 1989 revelou elevada prevalência de Rotavírus tipo A (8% dos
562 animais sem diarreia e 37% dos animais com diarreia) em potros diarreicos e elevada
563 associação entre rotavírus e diarreia foi encontrado. Outros patógenos potenciais
564 detectados em baixa prevalência incluíram *Salmonella* spp. (3/304), *Campylobacter*
565 spp. (1/304), *C. perfringens* (6% animais sem diarreia e 4% animais com diarreia)
566 (Browning et al., 1991).

567 Estudo controlado por um período de 3 anos investigou os agentes etiológicos de
568 diarreia em 644 potros com menos de 1 ano de vida (421 animais com diarreia e 223
569 animais sem diarreia) no Reino Unido. *E. coli*, *Campylobacter* spp., *Yersinia*
570 *enterocolitica*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* foram pesquisados através da
571 realização de cultivos específicos. Rotavírus foi detectado pela técnica de anticorpo

572 monoclonal, oocistos de *Cryptosporidium* spp. por imunofluorescência e ovos de
573 helmintos por OPG. *Clostridium perfringens* foi identificado em 46% do total de
574 animais (58% animais com diarreia, 23% animais sem diarreia sem contato com animais
575 com diarreia e 31% de animais sem diarreia em contato com animais com diarreia).
576 *Salmonella* spp. foi constatado em 3% do total de animais (2% animais com diarreia,
577 1% animais sem diarreia sem contato e 8% animais sem diarreia em contato com
578 animais com diarreia) e *Cryptosporidium* spp. em 17% do total de animais (20%
579 animais com diarreia, 7% animais sem diarreia sem contato e 17% animais sem diarreia
580 em contato com animais com diarreia). *C. perfringens* foi o patógeno mais importante
581 causador de morte em potros, causando quase metade das mortes de potros neste estudo.
582 *Salmonella* spp. sempre foi isolada de animais severamente afetados ou de animais que
583 estavam em contato com os animais gravemente acometidos. Rotavírus,
584 *Cryptosporidium* spp., *Strongyloides westeri* e *C. perfringens* foram associados a
585 diarreia, enquanto, *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica* e *Escherichia coli* não
586 foram implicados como agentes causadores de diarreia em potros (Netherwood, et al.,
587 1996).

588 Estudo conduzido com o objetivo de determinar a frequência de detecção dos
589 agentes infecciosos em uma população de 233 potros, com menos de 10 meses de idade
590 hospitalizados com diarreia, evidenciou o isolamento de pelo menos um agente
591 infeccioso em 55% dos animais estudados. Rotavírus foi o mais frequentemente isolado
592 (20%), seguido por *C. perfringens* (18%), *Salmonella* spp. (12%) e *C. difficile* (5%).
593 Potros com menos de um mês de idade apresentaram maior probabilidade de resultado
594 negativo ou de serem positivos para *C. perfringens* quando comparados aos potros mais
595 velhos. Potros acima de 1 mês de idade foram mais propensos a apresentarem resultado
596 positivo para *Salmonella* spp., rotavírus e parasitas comparados aos animais mais
597 jovens. Os agentes infecciosos detectados nas fezes ou em animais com bacteremia não
598 foram significativamente associados a taxa de sobrevivência dos animais. A limitação
599 do estudo foi a falta de população controle de animais hospitalizados sem diarreia, fato
600 que impossibilitou o estabelecimento da associação entre a detecção do agente
601 infeccioso nas fezes e a presença de diarreia nos animais estudados (Frederick et al.,
602 2009).

603 Na Irlanda, estudo retrospectivo que avaliou as causas de doenças e mortes em
604 uma população de 711 potros a campo durante os primeiros 12 meses de vida, revelou
605 46,5% de incidência de doenças causadas por agentes infecciosos. Diarreia afetou

606 17,5% dos animais, sendo o rotavírus detectado em 35,6% dos potros com diarreia
607 (Galvin e Corley, 2010).

608 Em Trinidad e Tobago, estudo avaliou a prevalência e a sensibilidade
609 antimicrobiana dos patógenos entéricos em 164 potros (9 com diarreia e 155 sem
610 diarreia) de propriedades rurais do país. Os resultados obtidos demonstraram elevada
611 frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em animais com diarreia (33%) quando
612 comparado aos animais sem diarreia (2,7%). Os sorovares encontrados foram *S.*
613 *Anatum*, *S. Javiana*, *S. Aberdeen* nos potros com diarreia e *S. Anatum*, *S. Uganda* e *S.*
614 *Javiana* nos potros sem diarreia. A frequência de detecção de *E. coli* (100% animais
615 com diarreia e 84,1% animais sem diarreia) não apresentou diferença estatística
616 significativa. Já as frequências de detecção de *Cryptosporidium* spp. (25% animais com
617 diarreia e 67,2% animais sem diarreia) e de *Strongyloides westeri* (20% animais com
618 diarreia e 36,7% animais sem diarreia) foram estatisticamente significativas. Neste
619 estudo não houve isolamento de *Clostridium* spp. e Rotavírus (Harris et al., 2012).

620 Estudo realizado por Slovis et al. (2014) avaliou através da técnica de qPCR a
621 prevalência de nove agentes infecciosos em 88 potros (37 potros saudáveis e 51 potros
622 com diarreia) da raça puro sangue inglês com dois dias a 17 semanas de idade. A
623 presença de coinfeções foi mais prevalente nos animais com diarreia (42%) quando
624 comparado ao grupo de animais sem diarreia (11%). Coinfeções entre vírus e
625 protozoários foram mais frequentemente identificadas em potros com diarreia. Além
626 disso, foi detectado ao menos um agente infeccioso em 62,3% dos animais do grupo
627 com diarreia e em 43,2% dos animais sem diarreia. A prevalência dos agentes
628 infecciosos detectada nas fezes dos animais foi: Rotavírus (35% dos animais sem
629 diarreia, 3% dos animais com diarreia), Coronavírus (29% animais com diarreia, 27%
630 animais sem diarreia), *Cryptosporidium* spp. (27% animais com diarreia, 11% animais
631 sem diarreia), *Salmonella* spp. (14% animais com diarreia, 0% animais sem diarreia),
632 *Rhodococcus equi* (8% animais com diarreia, 14% animais sem diarreia), *C. difficile*
633 toxina A (6% animais com diarreia, 0% animais sem diarreia), *C. difficile* toxina B (6%
634 animais com diarreia, 0% animais sem diarreia). Para *Salmonella* spp., além da técnica
635 de qPCR foi realizada a cultivo bacteriológico. A técnica de qPCR detectou mais
636 amostras positivas no grupo de animais com diarreia (14%), comparado a 8% de
637 animais positivos detectados no cultivo. Em ambas as técnicas, nenhum animal positivo
638 foi identificado no grupo de animais sem diarreia. Apesar da diferença não ser
639 estatisticamente significativa, confirma que a técnica de qPCR do meio de

640 enriquecimento seletivo apresentou maior sensibilidade e especificidade analítica no
641 diagnóstico, além da vantagem do menor período para a obtenção dos resultados quando
642 comparado ao cultivo (Amavisit et al., 2001; Pusterla et al., 2010, Slovis et al., 2014).

643 No Paquistão, as fezes de potros de até um ano de idade com diarreia foram
644 cultivadas para isolamento de *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* e *E. coli*, sendo
645 realizado posteriormente PCR para confirmação dos agentes etiológicos. Neste estudo, a
646 prevalência de diarreia em potros foi de 72,56% e a causa bacteriana foi identificada em
647 65,77%. A pesquisa revelou 48,77% de animais positivos para *E. coli*, 18,56% para
648 *Clostridium perfringens* e 17,9% para *Salmonella* spp. (Haq et al., 2018).

649 No Iraque, estudo avaliou a prevalência de patógenos entéricos em 100 amostras
650 de fezes de equinos saudáveis e com diarreia criados a campo. *Salmonella* spp. foi
651 isolado em 3,1% dos animais. A frequência de isolamento de *Salmonella* spp. foi maior
652 nos animais com diarreia (33,3%; n=3) do que nos animais saudáveis (2%; n=2)
653 (Hamzah et al., 2013).

654 Estudo retrospectivo realizado na África do Sul no período de 2007 a 2014
655 realizou cultivo de órgãos, tecidos, swabs, fluidos e identificou 162 isolados de
656 *Salmonella* spp. (13.2%) em equinos (Gelaw et al., 2018).

657 No Brasil, estudo realizado por Olivo et al. (2016) em 116 potros (56 com
658 diarreia e 60 sem diarreia) de até três meses de idade, identificou a presença de
659 coinfeções em 46% dos animais com diarreia e em 33% dos animais sem diarreia. Os
660 agentes mais prevalentes foram *E. coli* (30% animais com diarreia, 25% animais sem
661 diarreia), *Salmonella* spp. (25% animais com diarreia e 7% animais sem diarreia),
662 *Strongyloides westeri* (25% animais com diarreia e 25% animais sem diarreia),
663 *Clostridium perfringens* tipo A (21% animais com diarreia e 10% animais sem diarreia),
664 *Strongylus* spp. (11 animais com diarreia, 18% animais sem diarreia), *Rhodococcus equi*
665 vapA (5% animais com diarreia e 2% animais sem diarreia). A identificação de
666 *Salmonella* spp. foi realizada através de cultivo bacteriológico, na qual 15,5% de
667 animais foram positivos, sendo 14 animais com diarreia e quatro animais sem diarreia.
668 Foram identificados sete sorovares de *Salmonella* spp. sendo *Salmonella* Infantis,
669 *Salmonella* Saint Paul predominantes em animais com diarreia e *Salmonella* Infantis,
670 *Salmonella* Saint Paul, *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Newport em animais
671 sem diarreia. Todos os animais que vieram a óbito durante o estudo apresentaram
672 coinfeções e foram positivos para *Salmonella* spp. Os sorovares presentes nos animais
673 que vieram a óbito foram *Salmonella* Panama, *Salmonella* Infantis, *Salmonella*

674 Typhimurium, *Salmonella* Muenchen, *Salmonella* Newport. As coinfeções mais
675 frequentes neste estudo foram: *Strongyloides westeri*, *Strongylus* spp. associados a
676 *Salmonella* spp. e *Rhodococcus equi* vapA-positivo associado ao *Clostridium*
677 *perfringens* toxina A.

678 O estabelecimento do diagnóstico do agente causal de diarreia em potros é
679 frequentemente difícil, sendo a etiologia indeterminada em 44% a 78% dos casos,
680 podendo resultar no agravamento da enfermidade (Dwyer et al., 1990; Netherwood et
681 al., 1996; Reed et al., 2010; Malliccote et al., 2012). A avaliação das fezes é uma
682 importante ferramenta a ser utilizada nos animais com diarreia. A aparência
683 macroscópica, como presença de sangue, areia, alteração de coloração, odor e
684 consistência, podem direcionar o clínico no estabelecimento dos diagnósticos
685 diferenciais (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Spier, 1993; Smith, 2008). Os
686 exames microscópicos das fezes frescas, utilizando as técnicas de McMaster e Stoll
687 Hausheer, são importantes técnicas parasitológicas utilizadas para evidenciar a presença
688 de parasitismo e estimar a quantidade de ovos por grama de fezes de parasitos eliminada
689 pelos animais (Reed et al., 2010).

690 Amostras de fezes também podem ser avaliadas microscopicamente para
691 presença de leucócitos e células epiteliais. Geralmente, a celularidade aumenta com a
692 gravidade da diarreia. Animais com salmonelose apresentam aumento no número de
693 células epiteliais e leucócitos fecais. Mais de 10 leucócitos por campo é indicativo de
694 salmonelose (Morris et al., 1983). A análise das fezes para pesquisa dos principais
695 agentes infecciosos causadores de diarreia com base na idade e nos sinais clínicos
696 apresentados pelos animais é recomendado. O diagnóstico da diarreia requer a detecção
697 do vírus, bactéria e/ou toxinas nas fezes. Estes testes incluem microscopia eletrônica,
698 ensaio imunoenzimático (ELISA), cultivo bacteriológico de fezes, exames
699 parasitológicos e técnicas de biologia molecular (Cohen et al., 1996; Zimmel, 2008;
700 Reed et al., 2010; Smith, 2008) (Quadro 2).

701 A detecção de um ou mais agentes infecciosos nas fezes de potros com diarreia
702 não necessariamente indica que esses agentes sejam causadores da doença. No entanto,
703 em situações clínicas, a detecção de agentes infecciosos nas fezes é o método utilizado
704 para o estabelecimento do diagnóstico e tratamento, sendo sempre associado a história
705 clínica do animal, histórico da propriedade, avaliação física e laboratorial do potro e
706 resposta as terapias de suporte e antimicrobiana (Palmer e Benson, 1984; Spier, 1993;
707 Smith, 2008; Frederick et al., 2009).

708 A ultrassonografia abdominal é utilizada para a avaliação da espessura da parede
709 intestinal e sinais de enterocolite necrotizante. A radiografia abdominal pode ser
710 utilizada para a visualização da presença de acúmulo de areia, corpos estranhos e gás.
711 Um grande diferencial dos potros com diarreia é a sepse. Se disponível, escore de sepse
712 e hemocultura devem ser realizados (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Spier, 1993;
713 Smith, 2008).

714 A observação do comportamento do potro, presença de leite no rosto do animal,
715 o desinteresse em mamar, apatia e prostração são comportamentos graves onde a
716 intervenção do médico veterinário deve ser imediata (Magdesian, 2005; Mallicote et al.,
717 2012; Slovis et al., 2014). É muito importante a avaliação cuidadosa dos potros com
718 diarreia, especialmente dos animais com menos de 30 dias de idade. A combinação de
719 menor ingestão de fluidos, aumento da perda de fluidos pela diarreia, menor tamanho do
720 animal e sistema gastrintestinal curto promove a ocorrência da desidratação de forma
721 mais rápida e severa quando comparado aos animais adultos (Netherwood et al., 1996;
722 Slovis, 2019). A fluidoterapia intravenosa para a correção dos desequilíbrios
723 hidroeletrólíticos e ácidos-básicos é crítica no tratamento dos animais com diarreia
724 (Smith, 1981; Robinson, 2002; Magdesian, 2005; Paradis, 2006; Zimmel, 2008;
725 Mallicote et al., 2012; Slovis et al., 2014). Em casos severos onde há grande perda de
726 líquidos, eletrólitos e proteínas a hospitalização com contínua fluidoterapia é necessária.
727 A plasmaterapia é indicada em casos de perdas proteicas, diarreias de origem infecciosa e
728 para a manutenção do status imunológico ideal do potro.

729 O carvão ativado e CTO-esmectita são medicamentos utilizados como
730 adsorventes (Smith, 1981; Robinson, 2002; Magdesian, 2005; Paradis, 2006; Zimmel,
731 2008; Mallicote et al., 2012; Slovis et al., 2014). A antibioticoterapia de amplo espectro
732 é prescrita para a prevenção da bacteremia e infecções secundárias como pneumonia,
733 artrites, fisites e meningites (Magdesian, 2005; Mallicote et al., 2012; Slovis et al.,
734 2014). Todos os potros e animais neutropênicos com salmonelose devem receber
735 antibioticoterapia (Spier, 1993; Slovis et al., 2014). Ulceração gástrica é outra possível
736 complicação da diarreia. Assim, o tratamento profilático para úlceras gástricas com
737 omeprazol ou sucralfato pode ser prescrito. Potros com severa diarreia não mamam
738 adequadamente e por isso deverão ser suplementados por via enteral ou parenteral.
739 Anti-inflamatórios não esteroidais, como flunixin meglumina, podem ser utilizados
740 para alívio da dor e redução da dor e da inflamação (Smith, 1981; Robinson, 2002;
741 Magdesian, 2005; Paradis, 2006; Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012; Slovis et al.,

742 2014). Neostigmina auxilia no alívio do timpanismo gastrointestinal. A limpeza da região
 743 perineal, seguida da secagem e proteção perineal para prevenção de queimaduras
 744 provocadas pela diarreia devem ser instituídos para promover conforto ao animal
 745 (Netherwood et al., 1996; Slovis, 2019).

QUADRO 2. Testes diagnóstico utilizados para agentes causadores de diarreia em potros.

Agente Etiológico	Teste
<i>Rotavírus</i>	Microscopia eletrônica Aglutinação em látex ELISA qPCR
<i>C. perfringens</i>	Cultivo bacteriológico fecal PCR ELISA para enterotoxina ELISA+ PCR gene da toxina
<i>Salmonella</i> spp.	Cultivo bacteriológico fecal PCR
<i>C. difficile</i>	Cultivo bacteriológico fecal Teste de Citotoxicidade celular PCR para TcdA e TcdB ELISA para toxina A e B
<i>Coronavírus</i>	qPCR Microscopia eletrônica
<i>Cryptosporidium</i> spp.	Coloração ácido-resistente das fezes PCR ELISA
<i>Lawsonia intracellularis</i>	PCR Coloração de prata Warthin- Steiner
<i>Rhodococcus equi</i>	Cultivo bacteriológico fecal PCR
<i>Strongyloides westeri</i>	Flotação Contagem de OPG

746 Adaptado de Mallicote et al., 2012 e Oliver-Espinosa O., 2018.
 747 Abreviações: qPCR: reação da cadeia da polimerase em tempo real; ELISA: ensaio
 748 imunoenzimático; PCR: reação da cadeia da polimerase; OPG: ovos por grama de fezes,
 749

750 A prevenção da diarreia em potros deve ser baseada na minimização da
 751 exposição ao agente através da limpeza e desinfecção, isolamento dos animais com
 752 diarreia, aumento da imunidade, garantia da transferência da imunidade passiva e
 753 otimização das práticas de manejo profiláticas (Oliver-Espinosa O., 2018; Slovis, 2019).

754 Boas práticas de manejo são essenciais a prevenção da diarreia nos potros. O
 755 transporte das éguas prenhas deve ocorrer no máximo entre 4 a 6 semanas antes do
 756 parto afim de se garantir a formação adequada do colostro. Programa sanitário
 757 específico para éguas, potros e demais animais da propriedade, deve ser implementado.

758 Novas éguas, potros e outros animais novos na propriedade ou que retornem de
 759 atividades esportivas devem ser isolados por um período de duas a três semanas (Oliver-

760 Espinosa O., 2018; Slovis, 2019). Os animais devem ser agrupados de acordo com a sua
761 categoria em éguas prenhas, garanhões, potros desmamados e animais em treinamento.

762 Limpeza e desinfecção do local de nascimento dos potros, assim como a
763 remoção frequente de matéria orgânica após o nascimento, devem ser realizadas a fim
764 de se evitar a exposição aos agentes infecciosos. Deve-se garantir a completa
765 transferência de imunidade passiva através da ingestão de colostro boa qualidade
766 (Magdesian, 2005; Zimmel, 2008; Oliver-Espinosa O., 2018).

767 Os animais que estejam se recuperando da doença clínica ou que ainda
768 apresentam fezes de consistência pastosa são potenciais eliminadores de micro-
769 organismos nas fezes e devem ser isolados dos animais considerados saudáveis (Smith,
770 1981; Spier, 1993). O tempo necessário para um animal retornar ao convívio com os
771 demais animais da propriedade dependerá do agente etiológico envolvido. De maneira
772 geral, um período de 30 dias de isolamento é recomendado para animais com
773 diagnóstico de *Salmonella* spp., e de 14 dias após a normalização das fezes em animais
774 infectados com rotavírus e *Clostridium* spp. (Smith, 1981; Spier, 1993; Slovis, 2019).

775 O indicado é que os animais com diagnóstico positivo para *Salmonella* spp.,
776 após o período de 30 dias de isolamento, devem ter suas fezes submetidas ao
777 diagnóstico microbiológico e somente após o resultado negativo em 5 cultivos
778 bacteriológicos consecutivos com intervalo de 24h, liberados para o convívio com os
779 demais animais da propriedade (Dunkel e Wilkins, 2004; Magdesian, 2005; Zimmel,
780 2008; Mallicote et al., 2012). Cerca de 60% dos animais que se recuperam da
781 salmonelose apresentam cultivo bacteriológico negativo 30 dias após a recuperação
782 clínica e, cerca de 95% são negativos 90 dias após a recuperação clínica (Smith et
783 al., 1981; Slovis, 2019).

784 Adicionalmente, animais em recuperação não devem ser submetidos a situações
785 estressantes ou atividades físicas intensas, transportes por longas distâncias,
786 competições, procedimentos veterinários eletivos, devido a possibilidade de recorrência
787 da diarreia ou eliminação dos micro-organismos nas fezes.

788 As práticas de biossegurança devem ser intensificadas no manejo dos animais
789 com diarreia, a fim de se evitar a disseminação potencial dos agentes infecciosos com
790 utilização de luvas, botas, aventais, lavagem das mãos com água e sabão ou
791 desinfetantes e pedilúvios (Dunkel e Wilkins, 2004; Magdesian, 2005; Zimmel, 2008;
792 Mallicote et al., 2012). O tráfego de pessoas deve assegurar que os animais saudáveis
793 sejam manejados primeiramente, seguidos dos potros contactantes e, finalmente, os

794 animais com diarreia. Os animais contactantes dos com diarreia não devem ser movidos
795 a outros locais, pois os mesmos também devem ser considerados fontes de infecção
796 (Oliver-Espinosa O., 2018). O controle do tráfego de pessoas deve ser limitado.

797 A limpeza e desinfecção das instalações deve iniciar com a completa remoção
798 do material orgânico, especialmente do piso e paredes, além dos comedouros,
799 bebedouros, ralos e equipamentos de uso comum como escovas, termômetros e sondas
800 nasogástricas. Máquinas de água sob pressão não devem ser utilizadas quando micro-
801 organismos patogênicos forem suspeitos de causar diarreia nos animais (Slovis et al.,
802 2019). Após a retirada do material orgânico, todo o local deve ser lavado com
803 detergente, água, enxaguado e, posteriormente, desinfetantes específicos com
804 comprovada eficácia contra o agente infeccioso envolvido, devem ser aplicados (Dunkel
805 e Wilkins, 2004; Magdesian, 2005; Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012; Oliver-
806 Espinosa O., 2018).

807 O manejo das fezes é extremamente importante. Se possível, a compostagem do
808 material deve ser realizada para eliminação de muitos agentes infecciosos patogênicos
809 (Dunkel e Wilkins, 2004; Magdesian, 2005; Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012).

810

811 **2.2 *Salmonella* spp.**

812

813 *Salmonella* spp. pertence à família Enterobacteriaceae. São bactérias gram-
814 negativas anaeróbicas facultativas, usualmente móveis, não fermentadoras da lactose,
815 não formadoras de esporos, na sua grande maioria produtoras de gás a partir da glicose,
816 que colonizam o intestino delgado, ceco e cólon de animais de sangue frio e vertebrados
817 de sangue quente. São oxidase negativas, catalase positivas e reduzem nitrato a nitrito.
818 Testes bioquímicos adicionais como lisina descarboxilase e produção de urease podem
819 ser realizados especialmente para a diferenciação entre *Proteus* spp. e *Salmonella* spp.
820 (Quadro 3).

821 São isoladas em meio MacConkey por não serem inibidas pelos sais biliares
822 presentes no meio de cultivo. Inúmeros meios de cultivo podem ser utilizados para a
823 diferenciação da *Salmonella* spp. das outras enterobactérias como o ágar Verde
824 Brilhante, ágar XLD e ágar entérico Hektoen. As características das colônias de
825 *Salmonella* spp. se diferenciam dependendo do meio utilizado. No ágar sangue,
826 caracterizam-se como colônias de 1-3 mm, não hemolíticas, branco acinzentadas e lisas.
827 No ágar MacConkey são colônias claras ou transparentes, não fermentadoras de lactose.

828 No ágar XLD, as colônias são vermelhas com o centro enegrecido devido a
 829 metabolização do tiosulfato produzindo sulfeto de hidrogênio que reage com o ferro
 830 produzindo um composto escuro. No ágar entérico Hektoen as colônias apresentam
 831 coloração verde a azul com o centro enegrecido, característico da produção de sulfeto de
 832 hidrogênio.

833

834 **QUADRO 3. Características Bioquímicas da bactéria *Salmonella* spp.**

Características Bioquímicas		Testes IMViC	
Coloração de Gram	-	Produção de Indol	-
Formação de esporos	-	Teste vermelho de metila	+
Motilidade a 30°C (Flagelos) *	+	Teste utilização do citrato	+
Anaeróbicos facultativos	+	Teste VP (Voges-Proskauer)	-
Cápsula	-	Fermentação de Carboidratos	
Catalase	+	Arabinose	+
Oxidase	-	Dulcitol	+
Reação no Ágar TSI	Ápice (vermelho) Base (amarelo)	Glicose	+
Atividade da Urease	-	Lactose	-
Gás a partir da glicose	+	Maltose	+
Fermentação da Lactose	-	Manitol	+
Produção de H ₂ S em Ágar TSI	+	Manose	+
Produção Lisina Descarboxilase	+	Ramnose	+
Redução do nitrato a nitrito	+	Sorbitol	+
Xilose	+	Trealose	+

835

836 **Fonte:** Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp. Ministério da Saúde

837

838 *Salmonella* spp. é um agente causador de gastroenterites em humanos e animais
 839 apresentando distribuição mundial. A bactéria se dissemina a partir do intestino via
 840 corrente sanguínea para os linfonodos intestinais, fígado, baço onde se multiplica.
 841 Elevada mortalidade é associada a doença, que afeta mais de 90 milhões de pessoas em
 842 todo o mundo anualmente (Kaur e Jain, 2012). O gênero *Salmonella* spp. é composto
 843 por apenas duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*. *S. enterica* é a mais importante para
 844 os animais domésticos e humanos sendo dividida em 6 subespécies: *enterica* (I),
 845 *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) e *indica* (VI) (Grimont e
 846 Weil, 2007; Hurley et al., 2014) (Figura 1).

847 São conhecidos mais de 2.500 sorovares causadores de doenças nos humanos e
 848 animais, os quais são classificados de acordo com a sua composição antigênica segundo
 849 o sistema de White-Kauffmann-Le Minor (Grimont e Weill, 2007). De acordo com o
 850 esquema de sorotipificação tradicional, o sorovar é definido baseado na expressão dos
 851 antígenos somático (O) e flagelar (H). O terceiro grupo é o antígeno capsular (Vi) que é

852 expresso somente por poucos sorovares, incluindo *S. Typhi* e *S. Dublin* (Tabela 1). Os
 853 antígenos somáticos estão presentes no envelope polissacarídeo e são utilizados para
 854 dividir todas os sorovares de *Salmonella enterica* em 46 sorogrupos que, junto com 114
 855 antígenos flagelares distintos definem mais de 2.600 sorovares diferentes (Gal-Mor,
 856 2019). Destes, apenas *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* são imóveis (Grimont e Weill, 2007;
 857 Hurley et al., 2014).

858

859 **FIGURA 1. Classificação da bactéria *Salmonella* spp. em espécies e subespécies**

860

861

862

863

864

865

866

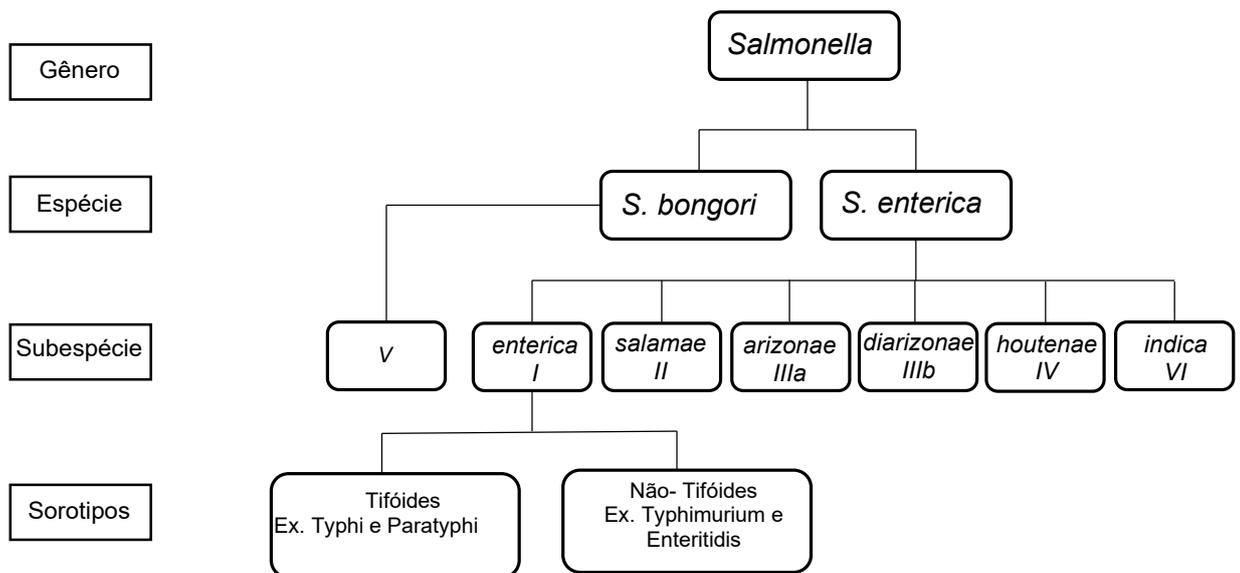
867

868

869

870

871



872 **Fonte:** Hurley D. et al. *Salmonella*–host interactions. *Frontiers in Immunology*, v.5 (3):481,2014.
 873

874 A grande maioria dos sorovares de *Salmonella* spp. listados no esquema de
 875 Kauffmann-White expressa alternativamente ambos os genes dos antígenos flagelares
 876 conhecidos como fase 1 (antígeno H1) e fase 2 (antígeno H2). Os sorovares que
 877 expressam os dois antígenos são denominados difásicos e os que expressam somente
 878 um antígeno são chamados monofásicos (Tavechio et al., 2004; Gal-Mor, 2019).
 879 *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, corresponde a 59% de todos os sorovares e é
 880 responsável por aproximadamente 99% dos casos clínicos de salmonelose nos animais
 881 de sangue quente (Brenner et al., 2000; Burgess e Morley, 2014). As estirpes de
 882 referência são mantidas pelo Centro de Referência da Organização Mundial de Saúde
 883 no Instituto Pasteur, em Paris e novos sorovares são listados e atualizados anualmente
 884 no Sistema Kauffman-White (Grimont e Weil, 2007; Hurley et al., 2014).

885

886

887

888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925

TABELA 1. Distribuição do número de sorovares de acordo com espécie e subespécie de *Salmonella* spp.

Espécies/Subespécies	Sorovares
<i>Salmonella enterica</i>	2.557
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	1.531
<i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i>	505
<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	99
<i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	336
<i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i>	73
<i>S. enterica</i> subsp. <i>indica</i>	13
<i>Salmonella bongori</i>	22
Total (gênero <i>Salmonella</i>)	2.579

Fonte: Grimont e Weill (2007)

Os sorovares ocorrem mundialmente. Infectam mamíferos, répteis, pássaros e são excretados via fezes. *Salmonella* spp. é considerado patógeno oportunista, causando doença clínica em situações de elevada exposição ou em animais e humanos que apresentam maior susceptibilidade, como neonatos e pacientes com severa doença sistêmica (Grimont e Weill, 2007; Hurley et al., 2014).

A transmissão ocorre via fecal-oral, podendo resultar em enterocolite (diarreia), bacteremia ou infecções subclínicas, sendo a infecção dependente da dose infectante, susceptibilidade do hospedeiro e o sorovar infectante (Grimont e Weill, 2007; Hurley et al., 2014).

O gênero *Salmonella* spp., pode ser dividido em três grupos principais, segundo a sua especificidade de hospedeiro e padrão clínico. Sorovares altamente adaptados aos humanos, incluindo *S. Typhi* e *S. Paratyphi* A e B, produzem quadros clínicos geralmente graves, cuja infecção se caracteriza por estado febril prolongado ou febre entérica, podendo causar septicemias. Sorovares altamente adaptados aos animais são representados por *S. Abortusovis* que causa abortamentos em ovelhas, *S. Abortusequi*, que causa abortamentos em equinos, *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, que causam sérias infecções em aves e *S. Typhisuis* que causa infecções em suínos (Grimont e Weill, 2007; Hurley et al., 2014, Gal-Mor, 2019). Em determinadas situações (idade jovem, doenças crônicas, imunossupressão) os sorovares Dublin e Cholerasuis podem determinar quadro septicêmico nos humanos. A terceira categoria inclui os sorovares zoonóticos ou generalistas que, na sua maioria, não apresentam um hospedeiro

926 específico, infectando indistintamente humanos e animais produzindo quadros de
927 enterocolite, como *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* (Grimont e Weill, 2007; Hurley et
928 al., 2014, Gal-Mor, 2019).

929 *Salmonella* spp. é um patógeno de grande importância em saúde pública e, nos
930 últimos 20, anos tem se destacado como causador de doença reemergente em humanos,
931 tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, principalmente
932 pela ocorrência crescente de cepas multirresistentes aos antimicrobianos, dificultando o
933 seu controle e tratamento, e aumentando os riscos de disseminação e persistência dessa
934 zoonose (Sanchez, 1998).

935 Nos Estados Unidos, estima-se que 1,41 milhões de casos e mais de 500 mortes
936 de humanos ocorram anualmente (Sanchez, 1998; Santos et al., 2003).
937 Aproximadamente 95% das infecções humanas por *Salmonella* spp. são causadas por
938 alimentos, correspondendo a 30% das mortes causadas por ingestão de alimentos
939 (Sanchez, 1998; Santos et al., 2003). No Brasil, *Salmonella* spp. é o segundo agente
940 causal mais frequente nos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos, sendo a
941 espécie entérica a que mais acomete os humanos por consumo de água e alimentos
942 contaminados (Sanchez, 1998; Santos et al., 2003)

943 Sua ampla distribuição no ambiente e resistência as condições adversas, bem
944 como a existência de mais de 2.500 sorovares, causadores de doenças nos humanos e
945 animais favorecem a disseminação e a complexidade de identificação (Sanchez, 1998;
946 Freitas-Neto et al., 2010). A contínua evolução genética contribuiu para o aumento da
947 virulência, levando a fenótipos de resistência a múltiplos fármacos. As duas mais
948 importantes mudanças na epidemiologia da salmonelose não tifóide ocorreu no último
949 século, que foi a emergência de infecções de origem alimentar em humanos causadas
950 pela *Salmonella enterica* Enteritidis e o surgimento de cepas *Salmonella enterica*
951 Typhimurium multirresistentes aos antimicrobianos. O aumento da resistência aos
952 antimicrobianos como fluorquinolonas, cefalosporinas de terceira geração e
953 carbapenêmicos são relatados. Sendo assim, recomenda-se a vigilância de infecções por
954 *Salmonella* spp. em humanos e animais (Sanchez, 1998; Freitas-Neto et al., 2010).

955

956 **2.3 Fatores de virulência**

957

958 *Salmonella* spp. é um patógeno intracelular facultativo cuja virulência está
959 relacionada a capacidade de invasão da mucosa intestinal, replicação intracelular no

960 tecido linfóide associado ao intestino e persistência em células não fagocíticas e
961 fagocíticas do hospedeiro (macrófagos e células dendríticas) (Wray C. e Wray A.,
962 2000).

963 Entre os fatores de virulência da bactéria destacam-se: cápsula, flagelo, adesinas,
964 lipopolissacarídeos de membrana (LPS) e plasmídios (Quinn et al., 2011). A cápsula
965 dificulta a fagocitose por neutrófilos e macrófagos. Os flagelos possibilitam a
966 mobilidade bacteriana. As adesinas e fimbrias são responsáveis pela aderência da
967 bactéria as células susceptíveis. O antígeno O, localizado na parede celular possui LPS
968 em sua estrutura, cuja composição lipídica está relacionada aos processos de choque
969 endotóxico (Quinn et al., 2011). Esta molécula está envolvida na colonização da mucosa
970 intestinal, participando do processo de adesão as células intestinais, pois confere
971 estabilidade a parede celular da bactéria, resistência aos sais biliares e hidrofobicidade
972 da superfície celular (Santos et al., 2003).

973 Os plasmídios têm DNA extra cromossômico que carrega fatores de virulência
974 associados a resistência aos antimicrobianos e a produção de toxinas, sendo
975 transmissível entre as cepas (Santos et al., 2003).

976 Muitos fatores de virulência são responsáveis pela indução de resposta
977 inflamatória no hospedeiro infectado. Existem duas categorias de estímulos pró-
978 inflamatórios que são observados durante a infecção: a estimulação do sistema imune
979 inato e fatores associados a virulência que exploram processos do hospedeiro resultando
980 em doenças (Santos et al., 2003).

981 Estudos dos mecanismos moleculares dos fatores de patogenicidade da bactéria,
982 demonstraram que os sorovares patogênicos e não patogênicos se diferenciam pela
983 presença de genes de patogenicidade específicos organizados nas chamadas ilhas de
984 patogenicidade (Kaur e Jain, 2012). As ilhas de patogenicidade (SPI) compreendem
985 grupos de genes de virulência móveis situados no cromossomo bacteriano ou em
986 plasmídeos, os quais foram adquiridos por meio de transferência genética horizontal, e
987 que podem prover as bases moleculares para o entendimento da patogenia da doença e
988 especificidade ao hospedeiro (Fortes et al., 2012; Hurley et al., 2014).

989 As ilhas de patogenicidade codificam genes envolvidos na adesão as células do
990 hospedeiro, invasão sobrevivência intracelular, mecanismos de evasão do sistema imune
991 do hospedeiro e na especificidade do hospedeiro. Além disso, contribuem com a
992 evolução genômica por transferência horizontal de genes entre as gerações (Kaur e Jain,
993 2012).

994 Até o momento, 23 ilhas de patogenicidade foram descritas, porém as funções
995 dos genes contidos nesses locais ainda não foram completamente determinadas (Hurley
996 et al., 2014). Nem todos os sorovares possuem todos as ilhas de patogenicidade, porém
997 SPI-1 até a SPI-5 são comuns a todos os sorovares de *Salmonella entérica*.

998 As ilhas de patogenicidade SPI-1 e SPI-2 são particularmente importantes no
999 processo de infecção “in vivo” através da codificação de proteínas do sistema de
1000 secreção tipo III (T3SS). A SPI-1 contém genes responsáveis pelo processo de invasão
1001 celular e a SPI-2 é responsável pela patogenia intracelular da bactéria e pelo processo de
1002 infecção sistêmica (Vieira, 2009; Kaur e Jain, 2012).

1003 Os genes do SPI-1, SPI-4 e SPI-5 são expressos sob condições impostas ao
1004 patógeno pelo hospedeiro como alterações no ambiente intestinal, pH, osmolaridade e
1005 presença de ácidos graxos voláteis de cadeia curta (Santos et al., 2003; Vieira, 2009).

1006 Outras ilhas de patogenicidade foram descritas como importantes na patogenia
1007 da infecção por *Salmonella* spp. A SPI-3 também codifica elementos que permitem a
1008 sobrevivência da bactéria no meio intracelular, sendo a principal função a codificação
1009 de sistema de transporte de alta afinidade com magnésio, que é importante para o
1010 fenótipo intracelular. Foram descritas outras ilhas de patogenicidade em *Salmonella*
1011 spp., que não possuem seu próprio sistema de secreção e realizam suas funções por
1012 meio de sistemas codificados em SPI-1 e SPI-2 (Fortes et al., 2012; Kaur e Jain, 2012).

1013 A ilha de patogenicidade 4 (SPI-4) é responsável pela codificação de fatores de
1014 virulência responsáveis pela íntima adesão da bactéria a célula epitelial, chamadas de
1015 adesinas não-fimbriais, necessárias para a adesão das bactérias as células intestinais
1016 (Fortes et al., 2012; Kaur e Jain, 2012). Esse complexo sistema de proteínas que
1017 realizam conexão entre si, possibilita *Salmonella* spp. atravessar a barreira
1018 gastrintestinal e sobreviver dentro de células fagocitárias (Vieira, 2009).

1019 Além dos fatores de virulência associados as ilhas de patogenicidade, há fatores
1020 de virulência ou de resistência antimicrobiana presentes em plasmídeos que são
1021 importantes para a multiplicação intracelular e invasão sistêmica (Fortes et al., 2012).

1022 Alguns dos sorovares mais importantes para a saúde humana, incluindo *S.*
1023 *Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Cholerasuis* apresentam plasmídeos de virulência. Estes
1024 plasmídeos de virulência apresentam locus gênico chamado plasmídeo de virulência de
1025 *Salmonella* spp. e contém genes *spvRABCD*. Os genes *spv* são importantes para a
1026 multiplicação bacteriana intracelular durante nas infecções extra-intestinais. Genes de

1027 virulência adicionais localizados nos plasmídeos incluem os responsáveis pela
1028 resistência fimbrial (*pef*-BACDI) e ao soro (*traT*).

1029 Embora a maioria dos plasmídeos de virulência não sejam auto-transmissíveis,
1030 alguns parecem conter um conjunto completo de genes de transferência que permitem
1031 que os plasmídeos sejam transferidos para cepas adicionais por conjugação,
1032 aumentando, potencialmente, a virulência aos hospedeiros (Vieira, 2009; Pham e
1033 McSorley, 2015). Devido a conservação entre cepas de um mesmo sorovar, os
1034 plasmídeos promovem uma vantagem aos sorovares que albergam esses plasmídeos
1035 (Kaur e Jain, 2012).

1036 Plasmídeos carreando fatores de resistência são rapidamente transferidos entre
1037 *Salmonella* spp. e outras Enterobactérias como a *E. coli*. Assim, se os plasmídeos
1038 existem no ambiente, especialmente sob intensa pressão de uso de antimicrobianos,
1039 podem facilmente ser transferidos entre os patógenos. Este fato é relevante, uma vez
1040 que *Salmonella* spp. é um micro-organismo que pode ser transmitido a outros animais e
1041 humanos. Os impactos sanitários da produção de bactérias multirresistentes em uma
1042 doença de característica zoonótica são grandes (Palmer e Benson, 1984).

1043 Estudos adicionais precisam ser realizados a fim de se caracterizar de forma
1044 mais específica a contribuição desses genes, assim como fatores de virulência e
1045 reguladores por eles codificados, uma vez que a caracterização da patogenia da
1046 salmonelose é crucial para o desenvolvimento de medidas profiláticas e terapêuticas,
1047 especialmente com a emergência de cepas resistentes aos antimicrobianos (Fortes et al.,
1048 2012).

1049

1050 **2.4 Patogenia**

1051

1052 A ingestão é a principal forma de infecção tanto nos humanos quanto nos
1053 animais, embora também possa ocorrer via mucosa, trato respiratório superior e
1054 conjuntiva (Smith, 1981; Quinn et al., 2011).

1055 O trato alimentar apresenta ambiente hostil sendo o primeiro mecanismo de
1056 defesa, a barreira ácida do estômago (Wray C. e Wray A., 2000). O baixo pH estomacal
1057 é uma barreira importante para a redução da quantidade de bactérias que chegam ao
1058 intestino delgado. A passagem por este ambiente induz a expressão pela bactéria de
1059 genes envolvidos no aumento da resistência bacteriana ao pH baixo do estômago.

1060 As bactérias que sobrevivem ao pH estomacal chegam ao intestino delgado, que
1061 por sua vez contém substâncias bactericidas como os sais biliares. Além dos sais
1062 biliares, a motilidade intestinal também é um desafio a colonização bacteriana. Outro
1063 importante fator que impede a colonização é a microbiota intestinal através da produção
1064 de substâncias inibitórias, competição por sítios de adesão nos tecidos e por nutrientes.

1065 A principal estratégia utilizada pela *Salmonella* spp. para escapar do ambiente
1066 competitivo intestinal é a penetração nas células epiteliais (Wray C. e Wray A., 2000).
1067 As bactérias atravessam a barreira epitelial intestinal por transporte passivo facilitado
1068 pelas células dendríticas ou, por invasão ativa (Hurley et al., 2014).

1069 Uma das características da infecção por *Salmonella* spp. é a predileção do local
1070 de invasão. Este local é o epitélio que recobre os folículos linfóides, que possuem
1071 células especializadas chamadas de células M, e os linfonodos que estão localizados na
1072 parede intestinal, especialmente na região do íleo, denominados de placas de Peyer. As
1073 placas de Peyer funcionam como a principal porta de entrada e sua colonização
1074 contribui para o desenvolvimento da doença, tanto nos processos de infecção localizada
1075 quanto sistêmica. Após o reconhecimento do local de invasão, as bactérias aderem à
1076 superfície epitelial através das adesinas e fimbrias sendo rapidamente internalizadas por
1077 macropinocitose (Smith, 1981; Quinn et al., 2011).

1078 Um aspecto marcante da patogenia do agente é a habilidade de invasão do
1079 epitélio do hospedeiro. A habilidade da bactéria para acessar e invadir o epitélio
1080 intestinal é conferido pelo conjunto de proteínas efetoras codificadas pela Ilha de
1081 patogenicidade 1 (Pham e McSorley, 2015). Além de codificar proteínas que capacitam
1082 a invasão de células do hospedeiro, existem na SPI-1, genes que codificam uma série de
1083 proteínas para o sistema de secreção de membrana plasmática tipo III (T3SS-1 e T3SS-
1084 2), que é um complexo proteico que forma um apêndice na superfície celular no formato
1085 de uma agulha, responsável pela transferência dos fatores de virulência da bactéria
1086 diretamente para o citoplasma da célula hospedeira (Hurley et al., 2014).

1087 Através desse sistema de secreção passam proteínas efetoras que, uma vez
1088 dentro da célula intestinal, atuam na célula hospedeira, alterando as funções celulares do
1089 hospedeiro, causando modificações no citoesqueleto e, conseqüentemente no arcabouço
1090 celular, possibilitando a entrada da bactéria e indução da resposta inflamatória. A SPI-1
1091 codifica uma série de proteínas efetoras (AopB, SipA, SopE e SopE2) que alteram a
1092 organização do citoesqueleto de actina da célula do hospedeiro, formando ondulações

1093 na superfície da membrana celular e, como consequência, as células epiteliais intestinais
1094 conseguem englobar a bactéria por meio de macropinocitose (Santos et al., 2003).

1095 A partir dos tecidos intestinais infectados os patógenos são drenados as placas de
1096 Peyer, estruturas ricas em células fagocíticas, onde os macrófagos formam a primeira
1097 barreira efetiva na prevenção da infecção (Wray C. e Wray A., 2000; Hurley et al.,
1098 2014; Pham e McSorley, 2015). Nesses locais, as bactérias são parcialmente fagocitadas
1099 e neutralizadas. Os fagócitos infectados são organizados em focos discretos, sendo a sua
1100 formação um processo dinâmico que envolve a presença de moléculas de adesão e o
1101 equilíbrio da ação das citocinas como interleucina-12 e IFN- γ .

1102 Se os mecanismos de defesa do hospedeiro conseguirem limitar a multiplicação
1103 bacteriana, a infecção permanece localizada no intestino e no tecido linfóide associado.
1104 Porém, se os macrófagos presentes nos linfonodos não conseguirem limitar a infecção,
1105 pode ocorrer infecção sistêmica (Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015). A partir
1106 da infecção das placas de Peyer, a bactéria pode disseminar via vasos linfáticos
1107 aferentes e serem drenados pelos linfonodos mesentéricos ou, eventualmente, ganhar a
1108 circulação sanguínea e tecidos através dos vasos linfáticos eferentes (Pham e McSorley,
1109 2015).

1110 O transporte de *Salmonella* spp. das placas de Peyer aos linfonodos mesentéricos
1111 e aos outros tecidos pode ocorrer via sistema retículo endotelial. Após a disseminação
1112 aos tecidos sistêmicos, a bactéria alcança o fígado, baço e medula óssea, sendo estes
1113 caracterizados como sítios secundários da infecção (Wray C. e Wray A., 2000).

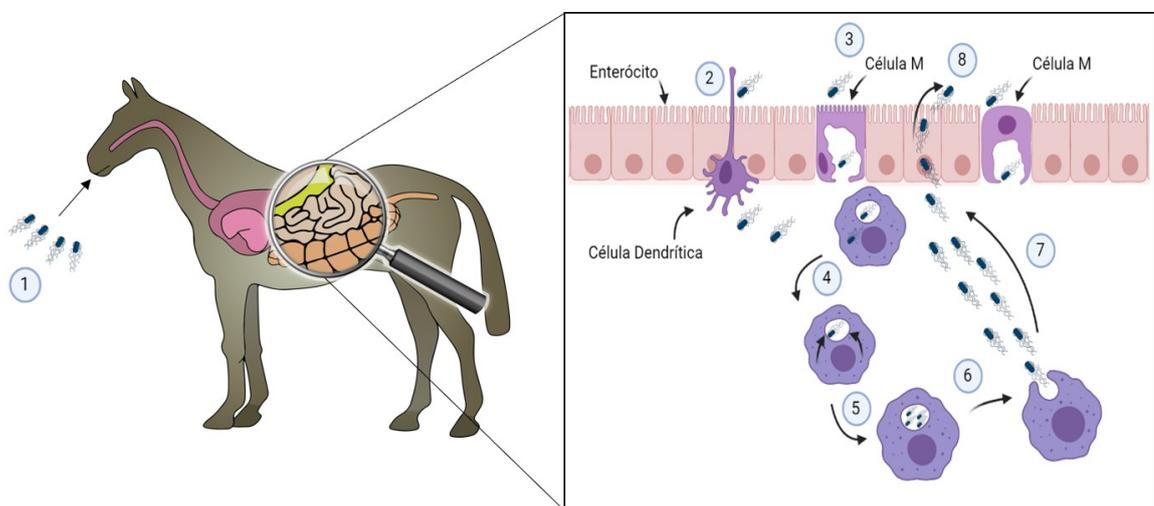
1114 Outro aspecto importante da patogenia do micro-organismo é a sua habilidade de
1115 sobreviver nas células fagocíticas e replicar-se dentro das vesículas das células do
1116 hospedeiro. Essa capacidade deve-se as proteínas codificadas pela SPI-2 (Fortes et al.,
1117 2012; Kaur e Jain, 2012). Essas proteínas protegem a bactéria dos mecanismos de
1118 defesa desencadeados pelos fagócitos, quando esta é fagocitada. Dessa maneira, a
1119 bactéria consegue sobreviver e se multiplicar nas células destinadas a defesa dos tecidos
1120 e destruição dos micro-organismos sendo capaz de causar infecções sistêmicas,
1121 proliferar e disseminar para sítios extra intestinais via fagócitos (Figura 2).

1122 A SPI-2 também codifica seu próprio sistema de secreção. Nos macrófagos, a
1123 bactéria secreta proteínas efectoras via T3SS-2 codificado pela SPI-2, que impedem a
1124 fusão do fagossomo ao lisossomo. Há multiplicação bacteriana resultando na secreção
1125 de citocinas pelos macrófagos. A presença de *Salmonella* spp. nestas células leva a

1126 secreção de citocinas com a indução de processo inflamatório ou ao processo de morte
1127 celular por apoptose (Kaur e Jain, 2012).

1128 A sinalização por citocinas induzida pela interação entre a célula hospedeira e a
1129 bactéria, é crucial ao desenvolvimento e progressão da salmonelose (Quinn et al., 2011;
1130 Hurley et al., 2014). A habilidade de causar infecção localizada ou sistêmica depende da
1131 interação do patógeno e o sistema imune do hospedeiro. A falha no sistema
1132 mononuclear fagocitário para contenção da infecção comumente ocorre em neonatos,
1133 resultado em septicemia e morte hiperaguda ou infecções extra-intestinais como
1134 pneumonia, artrite séptica e meningite (Spier, 1993).

1135



1136

1137 **FIGURA 2. Patogênese *Salmonella* spp. após infecção por via oral.**

1138 A doença causada por *Salmonella* spp. ocorre pela via oral (1). Após alcançar o lúmen intestinal, a
1139 bactéria pode atravessar a barreira epitelial por transporte passivo facilitado pelas células dendríticas que
1140 emitem pseudópodes entre as células epiteliais (2) ou por invasão através das células M que recobrem as
1141 placas de Peyer no intestino delgado (3). A passagem ativa também ocorre através das células epiteliais
1142 e requer a entrega de proteínas efetoras que são injetadas diretamente nas células do hospedeiro
1143 utilizando um sistema de secreção tipo III que é codificado por SPI-1, que também desencadeia o
1144 processo de inflamação intestinal. Em indivíduos imunocompetentes a inflamação induzida limita a
1145 disseminação da bactéria aos tecidos subjacentes e sistemicamente. No entanto, pode ocorrer a evasão
1146 do sistema imune e as bactérias sobreviverem dentro dos macrófagos e então serem transportadas
1147 através do sistema linfático sistemicamente (principalmente para o fígado, baço e linfonodos). Dentro do
1148 ambiente intracelular, a bactéria estabelece um vacúolo especial denominado (SCV) ou vacúolo contendo
1149 *Salmonella* spp., que permite a sobrevivência e replicação bacteriana (4 e 5). Este estágio requer a
1150 expressão dos genes de SPI-2 que codificam o sistema de secreção tipo III que permite a injeção de
1151 proteínas efetoras do vacúolo contendo *Salmonella* spp. dentro do citoplasma da célula. A presença da
1152 bactéria dentro das células do hospedeiro leva a secreção de citocinas e o início da inflamação e/ou
1153 apoptose dos macrófagos (6). A bactéria também pode propagar-se novamente ao intestino por invasão
1154 basolateral (7 e 8) e ser excretada pelas fezes. Fonte: Adaptado de <http://galmor-lab.com/Salmonella/>

1155 **2.5 Diarreia e Inflamação**

1156

1157 Os sinais clínicos nos casos de salmonelose estão relacionados aos fenômenos de
1158 invasão bacteriana de inúmeras células do hospedeiro e pela intensa resposta
1159 inflamatória com elevada produção de citocinas (Hurley et al., 2014).

1160 A infiltração neutrofílica, que precede a secreção de fluídos no intestino,
1161 desempenha papel importante da diarreia induzida por *Salmonella* spp. Somente
1162 sorovares de *Salmonella* spp. que causam enterite e diarreia são capazes de induzir a
1163 sinalização transepitelial para a migração de células polimorfonucleares (Santos et al.,
1164 2003).

1165 As proteínas efetoras SopA, SopB e SopD, SipA são responsáveis pelo sintoma
1166 de diarreia. SopB e SopD atuam na patogenia da diarreia pelo aumento do influxo de
1167 cloro. Adicionalmente, SopB apresenta importante papel na ativação do padrão
1168 secretório e atração de neutrófilos ao local da infecção. SopA e SipA estão envolvidas
1169 na indução da migração transepitelial dos neutrófilos (Vieira et al., 2009; Fortes et al.,
1170 2012).

1171 A potente reação inflamatória apresenta o inconveniente de provocar a morte
1172 das células do hospedeiro, assim como, levar a apoptose das células inflamatórias e
1173 epiteliais (Kaur e Jain, 2012; Hurley et al., 2014). A deficiência do processo de inibição
1174 das citocinas pró-inflamatórias resultará em predomínio de destruição celular,
1175 promovendo sérias lesões teciduais. Pela ação das proteases e mediadores inflamatórios
1176 ocorre extensa necrose da mucosa superficial, com descolamento da membrana basal,
1177 favorecendo o acúmulo de fluido e proteínas no lúmen intestinal promovendo o sinal
1178 clínico de diarreia (Chapman, 2006).

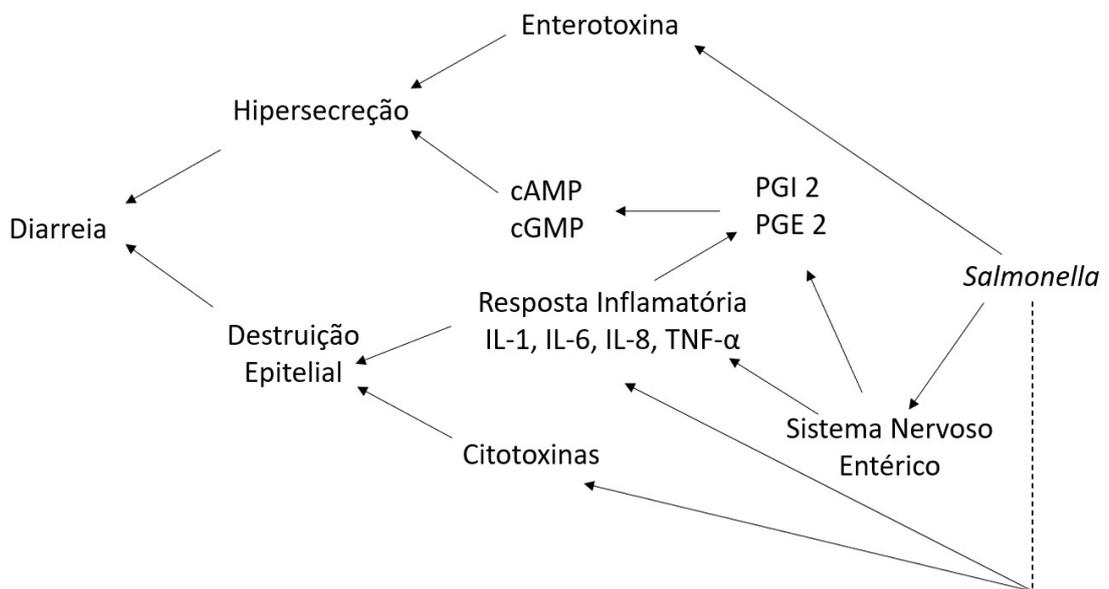
1179 A perda de fluidos é resultado da intensa reação inflamatória por mecanismos
1180 via PGI₂ e PGE₂ associada a má-absorção e produção de enterotoxina, resultando em
1181 diarreia secretória, contribuindo para a perda de fluidos (Spier, 1993; Hurley et al.,
1182 2014).

1183 As enterotoxinas bacterianas iniciam a diarreia através da ligação aos receptores
1184 que estimulam os sistemas mensageiros de cAMP e cGMP, levando ao aumento
1185 intracelular de cAMP e ativação dos canais de cloro. O transporte ativo de cloro para o
1186 lúmen é seguido pela perda de sódio, potássio e água criando alterações nos gradientes
1187 osmótico e elétrico promovendo a diarreia secretória. A resposta inflamatória também

1188 pode levar a hipersecreção por mecanismos via PGI2 e PGE2 e ativação do sistema
1189 nervoso entérico (Chapman, 2006) (Figura 3).

1190 Os detritos necróticos resultantes fornecem substrato adequado para a
1191 multiplicação bacteriana facilitando a eliminação e a contaminação ambiental (Santos et
1192 al., 2013; Hurley et al., 2014). A diarreia induzida pela infecção por *Salmonella* spp. é
1193 uma maneira eficiente de disseminação do micro-organismo no ambiente. O LPS é
1194 responsável pelos efeitos endotóxicos da infecção, contribuindo para a resposta
1195 inflamatória local com lesão das células epiteliais intestinais resultando no
1196 desenvolvimento da diarreia. O LPS também induz o choque endotóxico que pode ser
1197 acompanhado por septicemia (Quinn et al., 2011; Hurley et al., 2014).

1198 As lesões mais graves são encontradas no ceco e cólon ascendente, embora o
1199 íleo e cólon menor também apresentam lesões intensas. As lesões variam de conteúdo
1200 fluido e mucosa congesta a severa ulceração fibrinonecrótica e descamação de mucosa
1201 (Spier, 1993; Hurley et al., 2014). As alterações inflamatórias envolvem os vasos
1202 linfáticos da submucosa, aumento dos linfonodos mesentéricos, petéquias e equimoses
1203 nas superfícies serosas do trato gastrointestinal, epicárdio e adrenais (Spier, 1993; Hurley
1204 et al., 2014).



1205
1206 **FIGURA 3. Diagrama dos mecanismos envolvidos na diarreia por *Salmonella* spp.**

1207 Fonte: Chapman, 2006.

1208
1209
1210

1211 2.6 Imunidade a infecção

1212

1213 As imunidades inata e adaptativa podem combater as infecções bacterianas. A
1214 linha de frente contra a infecção por *Salmonella* spp. é a imunidade inata (Chapman,
1215 2006). Devido a sua localização, a eliminação de bactérias intracelulares requer
1216 mecanismos mediados por células. O passo inicial para a eliminação do patógeno
1217 envolve componentes do sistema imune inato, tais como células fagocíticas
1218 (macrófagos, neutrófilos), células NK (natural killer), sistema complemento, produção
1219 de citocinas e quimiocinas (McSorley, 2014; Pham e McSorley, 2015). Estas células são
1220 importantes no processo de proteção e eliminação inicial da infecção, sendo
1221 evidenciado a exacerbação da infecção quando os fagócitos são eliminados e aumento
1222 da eliminação e morte das bactérias quando os fagócitos são ativados (Wray C. e Wray
1223 A., 2000).

1224 A disseminação extra-intestinal para múltiplos órgãos ocorre em muitas
1225 infecções por *Salmonella* spp., possivelmente pelos fagócitos via sistema reticulo-
1226 endotelial através da sua capacidade de sobrevivência e replicação nos fagócitos. O
1227 principal sistema de defesa do hospedeiro contra *Salmonella* spp. é mediado por
1228 neutrófilos e macrófagos que produzem citocinas como TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-6,
1229 IL-8 (Pham e McSorley, 2015). As citocinas desempenham ação crucial na proteção
1230 contra a infecção modulando a intensidade e o tipo de resposta imune (humoral ou
1231 celular), além de alterarem a atividade das células efetoras (Wray C. e Wray A., 2000).
1232 Bovinos septicêmicos infectados por *Salmonella* Typhimurium não apresentaram
1233 elevados níveis séricos de TNF- α . Estudo revelou que bovinos que receberam IFN- γ
1234 recombinante, exibiram menor risco de septicemia e diminuição dos sintomas
1235 comparado ao grupo controle quando infectados por *Salmonella* Typhimurium (Wray C.
1236 e Wray A., 2000). A eliminação das bactérias dos tecidos requer a ativação das células
1237 CD4⁺ (T-helper) dependente de CD-28 e a presença dos receptores α e β das células T,
1238 sendo controlado pelos genes do complexo de histocompatibilidade classe II (Kaur e
1239 Jain, 2012; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015).

1240 Desta forma, a interação entre *Salmonella* spp. e as células epiteliais após a
1241 invasão do patógeno, induz a resposta inflamatória inata inicial através do recrutamento
1242 de células fagocíticas, principalmente neutrófilos e macrófagos, para o sítio de
1243 replicação bacteriana por meio de quimiocinas (IL-8, MCP-1, quimiocina epitelial
1244 induzida por patógeno) e citocinas pró-inflamatória (IL-1, IL6, TNF- α). Há aumento

1245 também da atividade dos macrófagos locais e indução da maturação e migração das
1246 células dendríticas (Coelho-Castelo et al., 2009; Kaur e Jain, 2012). A presença de
1247 receptores NOD (NLRs) nas células epiteliais é crucial para a indução da resposta
1248 inflamatória, pois estes receptores detectam a translocação de produtos bacterianos
1249 dentro do citosol da célula epitelial. Esse mecanismo é importante para a diferenciação
1250 entre bactérias comensais e agentes infecciosos como *Salmonella* spp. (Kaur e Jain,
1251 2012; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015).

1252 A infecção das placas de Peyer promove intensificação da reação inflamatória
1253 (Chapman, 2006). A resposta inflamatória nas placas de Peyer envolve o recrutamento
1254 de neutrófilos e monócitos. Esta população celular se reúne em torno das células
1255 infectadas no foco inflamatório, sendo esta resposta importante para o processo de
1256 defesa inicial contra *Salmonella* spp. e prevenção da disseminação sistêmica (Kaur e
1257 Jain, 2012; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015). Com a progressão e
1258 intensificação da reação inflamatória, há migração transepitelial maciça de leucócitos e
1259 neutrófilos promovendo morte celular, bem como apoptose das células inflamatórias,
1260 seguido de privação de nutrientes e finalização da replicação bacteriana (Kaur e Jain,
1261 2012; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015). A resposta inflamatória intensa é
1262 destrutiva tanto para as células do hospedeiro quanto para a bactéria. Quando o
1263 macrófago entra em apoptose, a bactéria é liberada promovendo a reinfeção das células
1264 epiteliais ou de outras células fagocíticas do sistema imune do hospedeiro (Coelho-
1265 Castelo et al., 2009; Kaur e Jain, 2012; Hurley et al., 2014). Embora a apoptose seja
1266 classicamente definida como uma forma de morte celular, este processo em última
1267 análise pode agir como um sinal pró-inflamatório (Chapman, 2006). A apoptose dos
1268 macrófagos induzida pela infecção por *Salmonella* spp. é associada a proteína efetora
1269 SipB de SPI-1 e a liberação de IL-1, uma potente citocina pró-inflamatória. Os
1270 neutrófilos não sofrem morte celular pela infecção por *Salmonella* spp. (Santos et al.,
1271 2003; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015).

1272 Na tentativa de eliminar as bactérias intracelulares, os monócitos, macrófagos e
1273 neutrófilos ativados produzem vários mediadores bioquímicos como TNF- α , iNOS, IL-
1274 1, IL-1 β , IL-18. Ainda, peróxido de hidrogênio, ânion superóxido, óxido nítrico e
1275 enzimas lisossomais que atuam diretamente contra as bactérias, reduzindo a
1276 multiplicação bacteriana (Coelho-Castelo et al., 2009; Kaur e Jain, 2012; Hurley et al.,
1277 2014).

1278 Outro componente importante são as células NK, as quais são ativadas
1279 diretamente por bactérias ou, indiretamente, em resposta a citocina IL-12, proveniente
1280 de macrófagos ativados. A ativação das células NK resulta na produção de IFN- γ ,
1281 principal citocina envolvida na ativação de macrófagos promovendo, assim, a morte das
1282 bactérias capturadas (Coelho-Castelo et al., 2009; Kaur e Jain, 2012; Hurley et al.,
1283 2014). Além disso, a estimulação dos macrófagos pelo IFN- γ resulta na produção de
1284 TNF, o qual juntamente com IFN- γ contribui com a atividade antibacteriana dessas
1285 células (Chapman, 2006). As células NK também podem levar a morte bacteriana pelo
1286 mecanismo da citotoxicidade celular dependente de anticorpos (Coelho-Castelo et al.,
1287 2009; Kaur e Jain, 2012; Hurley et al., 2014).

1288 O proeminente envolvimento do IFN- γ e IL-12 na proteção contra *Salmonella*
1289 spp. indica o papel das células Th1 e o consequente envolvimento da imunidade
1290 mediada por células para a proteção contra este patógeno (Wray C. e Wray A., 2000).

1291 Adicionalmente, há o recrutamento das células dendríticas em resposta a
1292 produção local de CCL20. As células dendríticas também contribuem na imunidade
1293 contra o patógeno devido a produção de citocinas inflamatórias, principalmente IL-12
1294 (Coelho-Castelo et al., 2009; Kaur e Jain, 2012; Hurley et al., 2014). A maturação das
1295 células dendríticas aumenta a capacidade de apresentação de antígenos e permite que
1296 essas células migrem aos tecidos linfóides, onde células T iniciam uma resposta imune
1297 adaptativa (Santos et al., 2003; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015). Durante o
1298 estágio inicial de ativação das células T, os linfonodos mesentéricos servem como local
1299 de ativação específica de células-T. A resposta imune do hospedeiro nos linfonodos
1300 mesentéricos possui função de inibir a disseminação da bactéria (Santos et al., 2003;
1301 Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015).

1302 Outro aspecto importante na ativação da resposta imune inata contra patógenos
1303 intracelulares é a ativação de macrófagos, via receptores de reconhecimento padrão,
1304 como o receptor de manose, do tipo Toll. A estimulação dos receptores desencadeará
1305 uma cascata de sinalização resultando na produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF-
1306 α , IL-1, IL-12) e reativos intermediários do nitrogênio, contribuindo, assim, para rápida
1307 ativação dos mecanismos da resposta imune inata (Santos et al., 2003; Hurley et al.,
1308 2014; Pham e McSorley, 2015).

1309 Grande variedade de citocinas inflamatórias é produzida como consequência da
1310 resposta imune inata no intestino incluindo IL-6, IL-12, IL-18 e IL-23 que, juntas, são
1311 importantes para prover um ambiente que permita a diferenciação de células T-CD4+

1312 em linhagem Th1 e Th17 (Hughes e Galan, 2002; McSorley, 2014). A ativação inicial
1313 das células T-CD4 é primeiramente detectada nas Placas de Peyer e, em seguida, nos
1314 linfonodos mesentéricos após a infecção oral. Células T-CD4⁺ específicas para
1315 *Salmonella* spp. são ativadas e expressam CD69 na superfície e produzem IL-2 (Hughes
1316 e Galan, 2002; McSorley, 2014).

1317 Uma vez que somente a resposta imune inata não promova a eliminação de
1318 bactérias patogênicas, haverá necessidade da participação da resposta imune adaptativa.
1319 Nesta etapa, destacam-se os mecanismos efetores que envolvem linfócitos TCD4 (perfil
1320 Th1, produtoras de IL-2 e IFN- γ) e TCD8. A contribuição das células CD4 (perfil Th1)
1321 consiste, principalmente, na ativação de macrófagos por meio da citocina IFN- γ e da
1322 interação entre as moléculas de superfície CD40L (células-T) e CD40 (macrófagos)
1323 (Santos et al., 2003; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015). Esta ativação,
1324 resultará na produção de peróxido de hidrogênio, ânion superóxido, óxido nítrico e
1325 enzimas lisossomais que podem destruir o patógeno.

1326 Diferentemente das células Th1, as células TCD4, com perfil Th2 (produtoras de
1327 IL-4 e IL-5) não contribuem na resistência contra bactérias intracelulares. Em contraste,
1328 o ambiente Th2, em geral, favorece a instalação da doença (Hughes e Galan, 2002;
1329 Coelho-Castelo, A et al., 2009; McSorley, 2014). As células TCD8 citotóxicas atuam na
1330 eliminação das bactérias intracelulares através da lise das células infectadas. Isto pode
1331 ocorrer uma vez que os antígenos bacterianos podem escapar das vesículas celulares,
1332 penetrando no citosol e sendo apresentadas vias MHC de classe I para as células T
1333 citotóxicas. As bactérias intracelulares dispõem de mecanismos de escape contra a
1334 resposta imune sendo os macrófagos os alvos preferenciais (Coelho-Castelo, A et al.,
1335 2009; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015).

1336 Após a eliminação primária da infecção, há o desenvolvimento da resposta
1337 imune protetora ao desafio secundário. A resposta imune humoral pode ser afetada por
1338 inúmeros fatores, como dose infectante, virulência da bactéria, via de infecção e idade
1339 do hospedeiro. Animais recém-nascidos podem responder fracamente a infecção ou
1340 seletivamente a determinados antígenos, podendo ser reflexo da imaturidade do sistema
1341 imune nesses animais, ou destruição do tecido linfóide em animais infectados por
1342 isolados virulentos de *Salmonella* spp. Animais mais velhos também podem apresentar
1343 dificuldade na resposta imune ao desafio por *Salmonella* spp. (Wray C. e Wray A.,
1344 2000; Hughes e Galan, 2002; McSorley, 2014).

1345 A imunidade adquirida sugere ação das células T-CD4 e T-CD8 na eliminação
1346 bacteriana secundária juntamente com produção de anticorpos pelas células B. As
1347 células B possuem função de células apresentadoras de antígeno e fonte importante de
1348 citocinas inflamatórias durante a infecção por *Salmonella* spp. (Santos et al., 2003;
1349 Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015).

1350 O efeito protetor dos anticorpos pode ser devido a fixação do complemento ou a
1351 opsonização das bactérias livres, mas também pode envolver efeitos indiretos na
1352 ativação das células-T devido a apresentação de bactérias opsonizadas (McSorley,
1353 2014). Uma semana após a infecção, são detectados anticorpos no soro de aves, bovinos
1354 e suínos, que permanecem por até 10 semanas. A imunoglobulina da classe IgM é
1355 produzida inicialmente, seguida por IgG e IgA. Os níveis de IgM e IgA declinam,
1356 enquanto os níveis de IgG permanecem por longos períodos. A reinfeção resulta em
1357 rápida e forte resposta ao micro-organismo e estes anticorpos podem ser passados
1358 através da gema do ovo e pelo colostro. A presença de anticorpos pode inibir a
1359 multiplicação de bactérias no ovo e proteger a descendência (Wray C. e Wray A.,
1360 2000).

1361 Diferentes determinantes antigênicos estão presentes na célula bacteriana como
1362 flagelo, LPS, fimbrias, componentes da parede celular e proteínas externas da
1363 membrana plasmática. Os anticorpos podem ou não oferecer proteção ao hospedeiro. A
1364 especificidade da resposta humoral também é fator importante. Anticorpos produzidos
1365 direcionados ao LPS podem apresentar reatividade cruzada entre os indivíduos devido a
1366 presença de 12 antígenos somáticos do LPS, que são comuns a muitos sorovares de
1367 *Salmonella* spp. Porém, esta reação cruzada é menos pronunciada aos antígenos
1368 flagelares e, há sorovares de *Salmonella* spp. que apresentam antígenos únicos (Santos
1369 et al., 2003; Hurley et al., 2014; Pham e McSorley, 2015).

1370 Como a infecção inicial ocorre primariamente na superfície da mucosa intestinal,
1371 a resposta imune humoral geralmente ocorre nesta região com predomínio de IgA,
1372 embora IgG e IgM também possam ser observadas. IgA pode ser encontrado na bile e
1373 nas secreções da mucosa. Em humanos e ratos, esses anticorpos promovem citotoxicidade
1374 celular mediada por anticorpos, ação bactericida por sequestro dos componentes de
1375 ferro, opsonização, inibem a aderência bacteriana e neutralizam toxinas (Wray C. e
1376 Wray A., 2000; Pham e McSorley, 2015).

1377 A secreção de IgA apresenta grande diversidade na habilidade de proteção das
1378 superfícies mucosas. Nos animais domésticos, a cinética da produção da imunidade

1379 humoral de mucosa segue a cinética pós-desafio semelhante a imunidade sistêmica.
1380 Bovinos oralmente infectados com *Salmonella* Dublin exibiram IgA detectável na
1381 mucosa e IgM anti-LPS, três dias após a infecção, permanecendo níveis elevados por
1382 até 30 dias (Wray C. e Wray A., 2000; Santos et al., 2003; Hurley et al., 2014; Pham e
1383 McSorley, 2015).

1384

1385 **2.7 Resistência aos componentes da imunidade inata**

1386

1387 *Salmonella* spp. possui estratégias para superar os mecanismos de defesa do
1388 organismo e estabelecer a infecção, incluindo resistência as células fagocíticas, sistema
1389 complemento, anticorpos específicos e imunidade celular (Wray C. e Wray A., 2000;
1390 Hughes e Galan, 2002; McSorley, 2014). Adicionalmente, há a replicação da bactéria e
1391 disseminação para outros hospedeiros. Em hospedeiros resistentes, a habilidade de
1392 causar infecção sistêmica provê vantagem seletiva, que facilita a transformação do
1393 hospedeiro em portador crônico, que possui o potencial de transmitir o agente no
1394 ambiente e a outros hospedeiros (Chapman, 2006). Os sorovares de *Salmonella* spp.
1395 podem utilizar diferentes fatores de virulência durante infecções localizadas e infecções
1396 sistêmicas (Hughes e Galan, 2002; Hurley et al., 2014; McSorley, 2014).

1397 *Salmonella* spp. é resistente ao sistema complemento e pode se multiplicar no
1398 soro contendo todos os componentes do sistema complemento. A resistência varia de
1399 acordo com o componente do LPS de cada sorovar. Os fatores do complemento são
1400 depositados no final do LPS, reduzindo a quantidade do complexo de ataque que
1401 alcança a membrana da célula bacteriana. Adicionalmente, a proteína codificada por
1402 plasmídeo, RcK, especifica resistência ao complemento. Contudo, o nível de resistência
1403 conferida varia e acordo com o sorovar (Wray C. e Wray A., 2000; Hughes e Galan,
1404 2002; Hurley et al., 2014; McSorley, 2014).

1405 As células fagocíticas constituintes do sistema imune inato são os locais
1406 preferidos para a multiplicação bacteriana no fígado e baço. Após a fagocitose, a
1407 bactéria expressa inúmeras proteínas dentro dos macrófagos que impedem a sua lise
1408 dentro dos fagolisossomos (Wray C. e Wray A., 2000; Hurley et al., 2014; McSorley,
1409 2014).

1410 A resposta imune a *Salmonella* spp. em modelo experimental em ratos é tardia
1411 quando comparada a outros patógenos, sugerindo que a bactéria apresenta mecanismo
1412 que atrasa a resposta imune adaptativa e, portanto, a infecção seja letal em ratos. Outros

1413 estudos indicam que a infecção dos macrófagos e a produção de óxido nítrico sejam
1414 suficientes para inibir a resposta imune adaptativa. A produção de óxido nítrico em
1415 elevadas concentrações bloqueia a proliferação de células-T. Contudo, em estudos que
1416 bloquearam a produção de óxido nítrico, nenhuma diferença no curso da infecção,
1417 tempo e duração da resposta imune foi observada (Wray C. e Wray A., 2000; Hurley et
1418 al., 2014; McSorley, 2014).

1419 A infecção por diferentes sorovares induz a imunidade humoral e celular.
1420 Acredita-se que a contribuição das células-T citotóxica e células-B na imunidade
1421 protetora em ratos seja uma característica intrínseca de susceptibilidade ao sorovar *S.*
1422 *Typhimurium* (Wray C. e Wray A., 2000; Hurley et al., 2014; McSorley, 2014). Muitos
1423 estudos ainda precisam ser realizados sobre os mecanismos de evasão da *Salmonella*
1424 *spp.* às respostas imunes do hospedeiro, uma vez que os modelos experimentais
1425 realizados em ratos não são fidedignos a realidade de todos os aspectos da doença em
1426 outros hospedeiros animais (Wray C. e Wray A., 2000; Hurley et al., 2014; McSorley,
1427 2014).

1428 Existe pouco conhecimento sobre os genes envolvidos na adaptação aos
1429 hospedeiros encontrados em outros sorovares como *S. Dublin* em bovinos, *S.*
1430 *Abortusovis ovis* em ovinos, *S. Abortusequi* em equinos, *S. Gallinarum* em aves e *S.*
1431 *Cholerasuis* em suínos. Consequentemente, alguns fatores de virulência necessários a
1432 infecção em outras espécies podem diferir dos encontrados em ratos e precisam ser
1433 identificados, a fim de que a completa patogenia da doença nesses hospedeiros seja
1434 compreendida (Wray C. e Wray A., 2000; Hurley et al., 2014; McSorley, 2014).

1435

1436 **2.8 Susceptibilidade e Genética**

1437

1438 A genética influencia a relação entre *Salmonella spp.* e o seu potencial
1439 hospedeiro. Alguns sorovares apresentam especificidade junto ao hospedeiro, enquanto
1440 outros sorovares possuem gama maior de potenciais hospedeiros (Hughes e Galan,
1441 2002; Pham e McSorley, 2015).

1442 Em ratos, muitos controles dos locus gênico são inatos no perfil de resistência
1443 dos animais a infecção por *S. Typhimurium*. O gene *Ity* regula a proliferação da
1444 *Salmonella Typhimurium* no animal. A susceptibilidade dos ratos a infecção por
1445 *Salmonella Typhimurium* parece ser decorrente do defeito na capacidade bactericida do
1446 macrófago. Um segundo locus gênico *Lps* controla a resposta dos ratos ao LPS. Um rato

1447 *Lps* deficiente é hiporresponsivo a estimulação do LPS e falha na produção de citocinas.
1448 Assim, poucos macrófagos são recrutados durante a infecção e as células exibem baixa
1449 habilidade de restringir a multiplicação bacteriana. Os animais *Ity*-susceptível o *Lps*-
1450 susceptível são extremamente susceptíveis a infecção por *S. Typhimurium*. A
1451 resistência e a susceptibilidade dos animais a infecção por *Salmonella* spp. é pouco
1452 compreendida nos animais domésticos (Wray C. e Wray A., 2000; Hughes e Galan,
1453 2002; Pham e McSorley, 2015). Porém, já foi demonstrada a existência de linhagens de
1454 aves que são mais resistentes a infecção por *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*.

1455 Em suínos, algumas raças exibiram população de monócitos com elevada
1456 capacidade fagocítica e atividade antimicrobiana contra *S. Typhimurium* (Wray C. e
1457 Wray A., 2000). Pelo fato dos sistemas imunes inato e adquirido atuarem na proteção do
1458 animal contra a infecção, qualquer fator que afete estas defesas pode aumentar a
1459 incidência ou gravidade da infecção (Quinn et al., 2011; Hurley et al., 2014; McSorley,
1460 2014).

1461 Animais muito jovens, que apresentam o sistema imune imaturo, são mais
1462 susceptíveis a infecção. Assim como animais que apresentem doenças pré-existentes, e
1463 que estejam submetidos a fatores estressantes como desmame, transporte, alteração
1464 alimentar, podem exercer efeitos imunossupressivos que predispõem a infecção por
1465 *Salmonella* spp. (Quinn et al., 2011; Hurley et al., 2014; McSorley, 2014).

1466

1467 **2.9 Resistência aos Antimicrobianos**

1468

1469 A resistência aos antimicrobianos é a capacidade do micro-organismo de
1470 interromper a ação de determinado agente antimicrobiano, resultando assim em
1471 tratamentos ineficazes, infecções persistentes, possibilidade de transmissão dessa
1472 característica a outros micro-organismos, além de aumentar a mortalidade de patógenos
1473 (Wray C. e Wray A., 2000; Quinn et al., 2011). Atualmente, a resistência aos
1474 antimicrobianos é um dos maiores problemas na saúde humana e animal, trazendo
1475 sérios prejuízos econômicos e sociais (Wray C. e Wray A., 2000; Quinn et al., 2011).

1476 Os antimicrobianos apresentam como alvo muitos processos bioquímicos e
1477 fisiológicos das células procariotas, com destaque para a síntese de parede, síntese
1478 proteica, duplicação do DNA e RNA, transcrição e processos bioquímicos como
1479 metabolismo do ácido fólico (Nishino et al., 2009; Quinn et al., 2011; Moreira et al.,
1480 2013). Em *Salmonella* spp. a resistência antimicrobiana é atribuída a vários

1481 mecanismos, como o bloqueio da capacidade de adesão do antimicrobiano a célula
1482 bacteriana, ativação de bombas de efluxo de antimicrobianos (devido as alterações na
1483 permeabilidade da membrana ou parede celular), além da degradação enzimática e
1484 alteração de sítios de ligação dos antimicrobianos na bactéria (Quinn et al., 2011;
1485 Hurley et al., 2014; McSorley, 2014; El-Tayeb et al., 2017). O Quadro 4 resume os
1486 principais mecanismos de resistência das enterobactérias aos principais agentes
1487 antimicrobianos utilizados atualmente. Dentre os principais mecanismos de resistência
1488 aos antimicrobianos destacam-se:

1489 **2.9.1 Destruição ou inativação enzimática da droga:** Esse mecanismo é um dos
1490 mais frequentes entre bactérias gram-negativas, afetando antimicrobianos da
1491 classe das penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos, que compartilham
1492 estrutura comum denominado anel β -lactâmico, alvo das β -lactamases (Nishino
1493 et al., 2009; Quinn et al., 2011; Moreira et al., 2013).

1494 **2.9.2 β -lactamases de espectro estendido (ESBL):** As enzimas β -lactamases de
1495 espectro estendido (ESBL) são responsáveis pela inativação de antimicrobianos
1496 β -lactâmicos devido a hidrólise do anel beta-lactâmico. Tais enzimas têm a
1497 capacidade de hidrolisar penicilinas, monobactâmicos e cefalosporinas de
1498 terceira e quarta geração e ao aztreonam, embora não hidrolisem cefamicinas ou
1499 carbapenêmicos (Thomson 2001). As ESBL são β -lactamases da classe A ou D
1500 que possuem certas características específicas como a presença de sítio ativo-
1501 serina, capacidade de hidrolisar cefalosporinas de amplo espectro e de
1502 inibição “*in vitro*” por inibidores de β -lactamases como ácido clavulânico,
1503 sulbactam e tazobactam (Bauernfeind et al. 1996, Thomson 2001, Nordmann &
1504 Mammeri 2007, Al-Bayssari et al. 2015). As bactérias produtoras de ESBL,
1505 além de carregarem grande número de genes de virulência, codificam genes
1506 importantes relacionados a alta capacidade de resistir aos β -lactâmicos como
1507 *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{GES}*, *bla_{PER}*, *bla_{VEB}* que geralmente estão contidos em
1508 plasmídeos, os quais podem ser transferidos horizontalmente por conjugação,
1509 transformação, transposição ou transdução, dependendo das condições do meio
1510 circundante, entre bactérias da mesma espécie ou de gêneros e espécies
1511 diferentes (Bauernfeind et al. 1996, Thomson 2001, Nordmann & Mammeri
1512 2007, Al-Bayssari et al. 2015). As ESBL provavelmente surgiram a partir de
1513 mutações na estrutura de β -lactamases com menor atividade hidrolítica. Estas
1514 mutações alteram a configuração e as propriedades do sítio ativo da enzima,

1515 tornando-as capazes de hidrolisar antimicrobianos como ceftazidima,
1516 ceftriaxona e cefotaxima. Há vários tipos de ESBL, provenientes das famílias
1517 TEM, SHV, CTX-M, OXA, PER, GES, VEB, BES, TLA. A detecção da enzima
1518 CTX-M tem aumentado mundialmente, podendo ser compartilhada entre
1519 diferentes espécies de enterobactérias (Bauernfeind et al. 1996, Thomson 2001,
1520 Nordmann & Mammeri 2007, Al-Bayssari et al. 2015). Estudos filogenéticos
1521 definiram as enzimas CTX-M em cinco grandes grupos, baseando-se na
1522 identidade da sequência de aminoácidos: CTX-M1, CTX-M2, CTX-M8, CTX-
1523 M9 e CTX-M25 e conferem níveis mais elevados de resistência a cefotaxima do
1524 que a ceftazidima (Bauernfeind et al. 1996, Thomson 2001, Nordmann &
1525 Mammeri 2007, Al-Bayssari et al. 2015). Muitas infecções em humanos
1526 causadas por bactérias produtoras de ESBL necessitam de tratamentos
1527 complexos, hospitalização e antimicrobianos carbapenêmicos injetáveis. Quanto
1528 maior a dependência dos carbapenêmicos maior o risco de desenvolvimento de
1529 resistência a esse importante antimicrobiano. Estima-se que 197.400 casos
1530 de hospitalização nos Estados Unidos sejam causados por enterobactérias
1531 produtoras de ESBL, com 9.100 mortes no ano de 2017 (CDC, 2019). No setor
1532 avícola, as bactérias produtoras de ESBL apresentam-se em destaque, visto que
1533 aves de corte são consideradas reservatórios desse grupo. A presença de
1534 bactérias produtoras de ESBL aparece em diferentes níveis na pirâmide de
1535 produção de aves de corte, como na superfície das carcaças e em ambientes de
1536 varejo, facilitando a transferência desse grupo para os humanos, ao longo da
1537 cadeia alimentar (Bauernfeind et al. 1996, Thomson 2001, Nordmann &
1538 Mammeri 2007, Al-Bayssari et al. 2015). A fim de se potencializar o diagnóstico
1539 e obter informações epidemiológicas mais precisas, principalmente no controle
1540 de surtos, é feita a detecção molecular das ESBL. O método molecular mais
1541 comum para a detecção de ESBL é a reação da cadeia em polimerase
1542 (Bauernfeind et al. 1996, Thomson 2001, Al-Bayssari et al. 2015).

1543 **2.9.3 β -lactamases tipo AmpC:** As β -lactamases do tipo AmpC são importantes
1544 enzimas que apresentam a capacidade de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas
1545 (1^a, 2^a e 3^a geração). Porém, não têm a capacidade de hidrolisar as
1546 cefalosporinas de quarta geração (cefepime), monobactâmicos e
1547 carbapenêmicos. São produzidas pela expressão de genes plasmidiais e
1548 cromossomais (Santiago et al., 2016). A presença do gene plasmidial aumenta a

1549 prevalência do mecanismo de resistência pela disseminação entre as diferentes
1550 espécies de bactérias gram-negativas (Bauernfeind et al. 1996, Thomson 2001,
1551 Nordmann & Mammeri 2007, Al-Bayssari et al. 2015). Esta resistência tem-se
1552 disseminado com bastante rapidez entre enterobactérias de origem humana,
1553 animal e do ambiente (Al-Bayssari et al. 2015). A presença de AmpC está
1554 frequentemente associada a multirresistência, uma vez que genes de resistência
1555 as mais variadas classes de antimicrobianos podem estar presentes no mesmo
1556 plasmídeo (Powers, 2016; Santiago et al., 2016). A importância clínica reside no
1557 fato de isolados produtores deste tipo de β -lactamase hidrolisarem cefamicinas
1558 (cefexitina e cefotetan), oximino-cefalosporina (como ceftazidima, cefotaxima e
1559 ceftriaxona) e monobactâmicos (como o aztreonam), limitando as opções
1560 terapêuticas para tratamento de infecções causadas por estas bactérias. O número
1561 de agentes antimicrobianos seguramente efetivos contra esses isolados é muito
1562 limitado levando ao aumento da mortalidade (Jacoby 2009, Martínez-Rojas
1563 2009). Em isolados produtores de AmpC pode-se fazer uso de carbapenêmicos e
1564 fluoroquinolonas, mas esta escolha deve ser baseada em avaliação da
1565 sensibilidade do isolado a estes agentes.

1566 Essas enzimas não são inibidas pelos inibidores de β -lactamases, de
1567 carbapenemase, como ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam, e EDTA.
1568 Porém, cloxacilina e oxacilina e o ácido borônico e seus derivados conseguem
1569 inibir a ação hidrolítica das enzimas AmpC (Santiago et al., 2016). Pequenas
1570 diferenças na sequência de aminoácidos deram origem as famílias e tipos de
1571 AmpC. As AmpC são classificadas em clusters baseados em sua resistência aos
1572 β -lactâmicos: CMY (cefamicinas), FOX (cefexitina), MOX (moxalactam), LAT
1573 (latamoxef) (Jacoby, 2009). Enterobactérias produtoras de AmpC estão entre as
1574 maiores preocupações clínicas por serem resistentes as cefalosporinas de 1^a, 2^a e
1575 3^a geração e outros β -lactâmicos com exceção de cefepime, cefpiroma e
1576 carbapenêmicos (Nordmann & Mammeri 2007, Jacoby 2009, Martínez-Rojas
1577 2009). A proteína CMY apresenta afinidade as cefamicinas e possui seis
1578 variantes: CMY-1, CMY-8, CMY-9, CMY-10, CMY-11 e CMY-19, que são
1579 expressas de forma constitutiva, ou seja, são codificadas independentemente da
1580 presença do antimicrobiano (Jacoby, 2009; Santiago et al., 2016). Em linhagens
1581 de *Salmonella* spp. e, na grande maioria das enterobactérias, a enzima CMY-2
1582 tem ampla distribuição, prevalente em isolados oriundos de animais de

1583 companhia e de produção (Santiago et al., 2016). Isolados produtores de AmpC
1584 tem apresentado resistência a múltiplos antimicrobianos (Jacoby 2009,
1585 Martínez-Rojas 2009). É muito importante diferenciar a produção de AmpC de
1586 outras enzimas, bem como de outros mecanismos de resistência, como alteração
1587 em porinas ou bombas de efluxo. A técnica de PCR é amplamente utilizada para
1588 detectar o gene AmpC e os subgrupos enzimáticos: DHA, CIT, CMY, FOX e
1589 outras (Martínez-Rojas 2009; Powers, 2016). A sensibilidade do isolado as
1590 cefamicinas (cefotaxima e cefotetan) é o teste de triagem para suspeita da
1591 produção de β -lactamase tipo AmpC e a observação da resistência do isolado
1592 aos inibidores de β -lactamase deve ser considerada (Thomson 2001).

1593 **2.9.4 Bloqueio da entrada no sítio-alvo:** As bactérias gram-negativas são
1594 naturalmente mais resistentes do que as gram-positivas devido a presença das
1595 porinas, proteínas que compõem membrana externa e formam canais, regulando
1596 a entrada de substâncias. Dessa forma, a resistência é estabelecida pela célula
1597 bacteriana devido a redução da abertura das porinas, e antimicrobiano se torna
1598 incapaz de entrar no espaço periplasmático para exercer o seu efeito
1599 microbicida. Esse mecanismo, conhecido na resistência bacteriana as
1600 tetraciclinas e penicilinas é resultado de mutações em genes cromossomais
1601 (Nishino et al., 2009; Quinn et al., 2011; Moreira et al., 2013).

1602 **2.9.5 Alteração no sítio-alvo:** Por meio desse mecanismo as bactérias podem
1603 adquirir um gene que codifica uma nova molécula resistente ao antimicrobiano,
1604 substituindo o alvo original. Além disso, também pode ocorrer a alteração no
1605 próprio alvo do antimicrobiano, porém conferindo características que o deixem
1606 menos suscetível. A ação da eritromicina e clindamicina é afetada por esse
1607 mecanismo (Nishino et al., 2009; Quinn et al., 2011; Moreira et al., 2013).

1608 **2.9.6 Efluxo e ejeção do antimicrobiano:** O bombeamento ativo de antimicrobianos
1609 do meio intracelular para o extracelular confere resistência as tetraciclinas.
1610 Algumas proteínas presentes na membrana plasmática das bactérias gram-
1611 negativas agem como bombas, que evitam o acúmulo dos antimicrobianos no
1612 interior da célula, expelindo-os antes que atinjam a concentração necessária para
1613 inativar a bactéria. Existem pelo menos nove genes codificadores de proteínas
1614 que promovem efluxo de antimicrobianos no gênero *Salmonella* spp. das quais
1615 oito também estão presentes em *Escherichia coli*: *AcrAB*, *AcrD*, *AcrEF*,
1616 *MdtABC*, *EmrAB*, *MdfA*, *MdtK* e *MacAB*. O gene *MdsABC* é exclusivo ao

1617 gênero *Salmonella* (Nishino et al., 2009; Quinn et al., 2011; Moreira et al.,
1618 2013).

1619

1620 **QUADRO 4. Principais mecanismos de resistência das enterobactérias aos**
1621 **antimicrobianos utilizados atualmente em humanos e animais.**

Classe do Antimicrobiano	Modo de Ação	Principal mecanismo de resistência
β -lactâmico	Síntese parede bacteriana	B-lactamases, alteração das proteínas de ligação as penicilinas, redução na permeabilidade
Aminoglicosídeos	Síntese proteica, Unidade ribossômica 30S	Modificação de enzimas, redução na captação
Tetraciclínas	Síntese proteica, Unidade ribossômica 30S	Efluxo
Quinolonas	DNA girase	Alteração no sítio alvo
Cloranfenicol	Síntese proteica, Unidade ribossômica 50S	Acetiltransferase

1622 Fonte: Adaptado Wray C. e Wray A., 2000.

1623

1624 *Salmonella* spp. apresenta alta variabilidade genética, reflexo da interação
1625 dinâmica entre o patógeno, meio ambiente e hospedeiro (Wray C. e Wray A., 2000; Liu
1626 et al., 2011; Quinn et al., 2011). A grande variação genética nesse gênero é responsável
1627 pela codificação de estruturas como os lipopolissacarídeos e flagelos bem como a
1628 expressão de genes de virulência específicos e genes de resistência aos antimicrobianos,
1629 que conferem proteção ao patógeno (De la Cruz e Davies, 2000; Wray C. e Wray A.,
1630 2000; Quinn et al., 2011).

1631 Há duas formas pelas quais as bactérias podem transferir seu material genético.
1632 Na transferência gênica vertical, os genes são passados do micro-organismo para seus
1633 descendentes. Na transferência gênica horizontal, os genes podem ser adquiridos de
1634 outros micro-organismos da mesma geração. Esse fenômeno envolve uma célula
1635 doadora que contribui parte de seu genoma para uma célula receptora, que pode ser de
1636 uma espécie ou até mesmo de um gênero diferente (De la Cruz e Davies, 2000; Liu et
1637 al., 2001). Após a transferência, parte do DNA da doadora é incorporado ao DNA da
1638 receptora, que passa a ser denominada de recombinante (Quinn et al., 2011). Alguns
1639 genes adquiridos horizontalmente podem proporcionar efeitos deletérios a célula
1640 bacteriana que os recebeu. Porém, há genes que conferem ao patógeno a vantagem
1641 seletiva em relação ao hospedeiro e possuem o potencial de serem rapidamente

1642 disseminados dentro da população bacteriana (De la Cruz e Davies, 2000; Liu et al.,
1643 2001; Moreira et al., 2013).

1644 Existem três mecanismos pelos quais é possível ser realizada a transferência
1645 gênica horizontal: transdução, transformação e conjugação. Além disso, existem
1646 mecanismos adicionais para a modificação genética das bactérias, chamados elementos
1647 genéticos móveis como plasmídeos, transposons e integrons. No gênero *Salmonella* a
1648 presença de tais elementos é frequentemente estudada e associada a genes de resistência
1649 aos antimicrobianos, geralmente referida como ilhas de resistência antimicrobiana.
1650 Desta forma, estes elementos são importantes indicativos do desenvolvimento e
1651 distribuição desse mecanismo entre os diferentes sorovares de *Salmonella* spp. (De la
1652 Cruz e Davies, 2000; Liu et al., 2001; Moreira et al., 2013).

1653

1654 **2.10 Epidemiologia**

1655

1656 *Salmonella* spp. frequentemente é encontrada no ambiente e a doença em
1657 animais ocorre quando há alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro ou
1658 quando há elevada taxa de infecção (Spier, 1993). Fatores de virulência incluem
1659 habilidade de aderência e invasão da mucosa intestinal, produção de enterotoxinas,
1660 citocinas e estimulação de resposta inflamatória local e sistêmica (Dunkel e Wilkins,
1661 2004).

1662 A infecção dos animais ocorre pela via fecal-oral (Spier, 1993; Traub-Dargatz et
1663 al. 1990; Traub-Dargatz e Besser 2000). A fonte inicial de infecção em equinos em
1664 casos individuais ou em surtos frequentemente não é identificada (Kim et al. 2001;
1665 Ward et al. 200; Traub-Dargatz et al., 2000). As fontes potenciais de infecção incluem
1666 contato direto com animais que apresentam a infecção clínica ou subclínica (portadores)
1667 como animais domésticos, de produção e silvestres, contato com superfícies,
1668 equipamentos e pessoas contaminadas, ingestão de alimentos ou água contaminados
1669 com fezes, ingestão de fezes contaminadas de roedores, pássaros ou de outros animais
1670 como bovinos, ovinos e insetos mortos (Traub-Dargatz et al. 1990; Traub-Dargatz et al.,
1671 2000).

1672 A alimentação é uma fonte potencial de *Salmonella* spp. para equinos. As fontes
1673 de alimentos utilizadas na produção de ração para equinos podem ser positivas desde a
1674 sua origem, ou serem contaminadas no momento da chegada na propriedade por fezes
1675 de ratos, pássaros e insetos (Traub-Dargatz et al., 2000; Kim et al. 2001; Ward et al.

1676 2005; Sellon e Long, 2007). Pastos podem se tornar contaminados pela fauna silvestre,
1677 fertilizantes orgânicos e água contaminada (Morse et al., 1976; Smith, 1981). Os solos
1678 podem albergar a bactéria entre 120 e 180 dias. O papel da água como fonte de
1679 salmonelose em equinos é incerto, porém a bactéria pode sobreviver por 115 dias
1680 dependendo do sorovar, características de pH e salinidade e temperatura da água. O
1681 congelamento pode diminuir a população bacteriana (Kim et al. 2001; Ward et al. 2005;
1682 Traub-Dargatz et al., 2000).

1683 No caso de *S. Abortuequi*, a infecção ocorre por contato com as membranas e
1684 fluidos de fetos abortados (Martelli et al., 2018).

1685 O período de incubação é acima de 12 horas e varia entre 1 a 5 dias, dependendo
1686 de inúmeros fatores determinantes da infecção, incluindo dose infectante, virulência do
1687 agente, status imunitário e nível de estresse do hospedeiro (Smith, 1981; Spier, 1993).
1688 Em cavalos normais, grande quantidade de micro-organismos (10^7 ufc ou mais) é
1689 necessária para causar doença clínica, já em cavalos com alterações no sistema imune,
1690 quantidades menores são necessárias (Smith, 1981).

1691 Estudos indicaram que a febre pode ocorrer 1,5 dias após a infecção e a diarreia
1692 1,7 dias pós infecção quando as doses infectantes variaram de 10^4 a 10^{13} ufc (Burgess e
1693 Morley, 2014). O período entre a infecção e a eliminação da bactéria nas fezes depende
1694 do sorovar, dose infectante, status de saúde do hospedeiro, podendo variar de 3 a 5 dias
1695 em infecções naturais (House et al., 1999; Burgess e Morley, 2014).

1696 A susceptibilidade dos equinos a infecção e a gravidade da doença em parte está
1697 relacionado ao sorovar envolvido (Wenkoff, 1973; Walker et al., 1991; Mallicote et al.,
1698 2012). Os cavalos normalmente são infectados por vários sorovares (Spier, 1993). Há
1699 certos sorovares mais comumente encontrados nos equinos como *S. Typhimurium*, *S.*
1700 *Enteritidis*, *S. Anatum*, *S. Heidelberg*, *S. Newport* e *S. Agona* (Smith et al., 1981;
1701 Mallicote et al., 2012).

1702 *Salmonella* spp., é considerado um patógeno causador de surtos de enterite nos
1703 Estados Unidos, Inglaterra, Austrália e Japão, sendo os sorovares *S. Typhimurium*, *S.*
1704 *Agona* e *S. Saint Paul* os mais prevalentes (Powell et al., 1988; Dwyer, 1990). Outros
1705 sorovares parecem ser menos patogênicos aos equinos podendo ser isolados de animais
1706 assintomáticos e, raramente, relatados como causadores de doença nesses animais
1707 (Smith, 1981).

1708 Infecção de animais por diferentes sorovares pode ocorrer. Assim, a
1709 sorotipificação dos isolados auxilia na identificação das fontes de infecção afim de que
1710 corretas medidas higiênico-sanitárias sejam implementadas (Smith, 1981; Spier, 1993).

1711 A infecção por *Salmonella* spp. hospedeiro específico de equinos *Salmonella*
1712 Abortuequi é associado ao abortamento em éguas, septicemia neonatal e poliartrite. Este
1713 sorovar é comumente relatado na Ásia e África, mas é somente esporadicamente
1714 relatado na Europa, América do Sul e Estados Unidos (Grandolfo et al., 2018; Martelli
1715 et al., 2018).

1716 Portadores assintomáticos servem como reservatórios do patógeno e apresentam
1717 um papel central na epidemiologia da doença podendo excretar *Salmonella* spp. nas
1718 fezes quando da presença de fatores predisponentes como doenças concomitantes, parto,
1719 transporte, estresse ou depressão do sistema imunológico (Smith, 1981; Begg et al.,
1720 1988; Spier, 1993). Além da eliminação do agente com potencial de transmissão aos
1721 outros animais, especialmente potros, o animal pode desenvolver os sinais clínicos de
1722 salmonelose (Morse et al., 1976; Begg et al., 1988; Martelli et al., 2018).

1723 Os cavalos com infecções subclínicas eliminam os micro-organismos (menos de
1724 10 ufc/g de fezes) por períodos variados de dias a meses (Smith, 1981; Palmer et al.
1725 1985; Traub-Dargatz et al. 1990; Spier, 1993; Cohen et al. 1994, 1995; Mainar-Jaime et
1726 al. 1998; Kim et al. 2001; Ernst et al. 2004; Ward et al. 2005). Muitos animais que se
1727 recuperam da salmonelose ou que estejam com a doença subclínica cessam a eliminação
1728 da bactéria nas fezes entre 3 a 16 semanas após episódio de doença aguda (Smith, 1981;
1729 Palmer et al. 1985; Traub-Dargatz et al. 1990; Spier, 1993; Cohen et al. 1994, 1995;
1730 Mainar-Jaime et al. 1998; Kim et al. 2001; Ernst et al. 2004; Ward et al. 2005). Embora
1731 a maioria dos cavalos elimine *Salmonella* spp. por até quatro meses após a recuperação
1732 dos sinais clínicos, alguns animais podem eliminar a bactéria por até 14 meses, como no
1733 caso de infecções por *S. Enteritidis* (Bryans et al., 1972; Morse et al., 1976; Smith et al.,
1734 1981).

1735 Os antimicrobianos que são efetivamente utilizados na prevenção de bacteremia
1736 em potros ou em animais adultos com doença clínica severa, não suprimem a
1737 eliminação da bactéria nas fezes, podendo até mesmo prolongar o período de eliminação
1738 das bactérias pelos animais (Spier et al, 1993).

1739 A quantidade de bactérias eliminadas nas fezes de animais pode levar ao risco de
1740 saúde tanto dos humanos quanto de outros animais contactantes, (Morse et al., 1976).
1741 Animais com salmonelose clínica associada a diarreia podem eliminar grandes

1742 quantidade de bactérias nas fezes (10^5 ufc/g de fezes) contaminando o ambiente (Smith,
1743 1981; Palmer et al. 1985; Traub-Dargatz et al. 1990; Spier, 1993; Cohen et al. 1994,
1744 1995; Mainar-Jaime et al. 1998; Kim et al. 2001; Ernst et al. 2004; Ward et al. 2005).
1745 Os potros podem eliminar até 3×10^5 organismos/g de fezes (Morse et al., 1976).

1746 Animais com doença gastrointestinal ou cólica apresentam aumento na
1747 probabilidade de eliminação da bactéria nas fezes com prevalência variando de 4,3% a
1748 13% (Alinovi et al., 2003; Ernst et al., 2004; Burgess e Morley, 2014), sugerindo que
1749 *Salmonella* spp. geralmente é eliminada em baixo número nas fezes, a menos que haja
1750 distúrbios abdominais (Cohen et al. 1995; Ernst et al. 2004; Ward et al. 2005). O
1751 aumento da liberação de *Salmonella* spp. em cavalos com dor abdominal e doença
1752 gastrointestinal não afeta significativamente a mortalidade, mas é indesejável devido ao
1753 potencial de colite e aumento da eliminação e contaminação ambiental (Cohen et al.
1754 1995; Ernst et al. 2004; Ward et al. 2005).

1755 A avaliação das amostras fecais de animais de enduro no período pré e pós
1756 competições revelou 0,5% de animais eliminadores, sugerindo que a eliminação de
1757 *Salmonella* spp. é incomum em cavalos de enduro durante as competições (Fielding et
1758 al., 2013). Porém, estudo retrospectivo em cavalos de enduro com cólica revelou 8% de
1759 animais eliminadores de *Salmonella* spp. (Fielding et al., 2013).

1760 Animais que apresentem cólica aguda associado a febre ($>39,4^\circ\text{C}$), diarreia e
1761 contagem anormal de leucócitos ($\leq 4.500 \text{ cel}/\mu\text{L}$ ou leucocitose $\geq 12.500 \text{ cel}/\mu\text{L}$), assim
1762 como animais com doenças sistêmicas graves, que passaram por cirurgia abdominal,
1763 que foram transportados por longas distâncias, que receberam antibioticoterapia ou que
1764 foram hospitalizados por um período muito longo, neonatos e potros em estado grave,
1765 principalmente os que possuem alterações gastrointestinais, apresentam maior
1766 probabilidade de eliminação de *Salmonella* spp. nas fezes (Traub-Dargatz et al., 1990;
1767 Alinovi et al., 2003; Dallap et al., 2012; Burgess e Morley, 2014).

1768 Na Universidade do Colorado, estudo demonstrou que os animais que
1769 apresentaram maior frequência de isolamento de *Salmonella* spp. nas fezes foram os
1770 admitidos com doença gastrointestinal (60,8%), seguido de doença músculo-esquelética
1771 (34,2%) e aproximadamente 10% apresentavam-se clinicamente normais (Burgess e
1772 Morley, 2014).

1773 Muitos hospitais manejam animais com doença gastrointestinal ou cólica
1774 separadamente da população geral de animais internados pelo maior risco de eliminação
1775 das bactérias nas fezes (Burgess e Morley, 2014). Nas propriedades, em muitos casos, o

1776 isolamento dos animais entre 4 a 6 semanas ou até obtenção de cinco cultivos seriados
1777 negativos com intervalo de 24 horas é considerada prática segura a fim de se evitar a
1778 disseminação do agente aos outros animais. Outra medida a ser implementada é o
1779 isolamento de animais infectados, impedindo o seu contato com potros e éguas
1780 gestantes pois neonatos são susceptíveis a baixas doses infectantes de *Salmonella* spp.
1781 (Smith, 1981; Palmer et al. 1985; Traub-Dargatz et al. 1990; Spier, 1993).

1782 Casos isolados e surtos de salmonelose podem ocorrer, onde o estresse apresenta
1783 papel significativo no desenvolvimento da doença (Smith, 1981). Surtos de salmonelose
1784 podem ocorrer em potros de qualquer idade, mas a maioria dos casos em potros ocorre
1785 em casos isolados (Smith, 1981; Zimmel, 2008). Doenças pré-existentes e
1786 concomitantes, quando complicadas por *Salmonella* spp. apresentam elevada
1787 mortalidade, especialmente em potros (Morse et al., 1976).

1788 Calor e umidade associados ao confinamento podem iniciar a eliminação por
1789 animais portadores e quando há a associação dos fatores ambientais aos procedimentos
1790 cirúrgicos há a manifestação da salmonelose clínica (Morse et al., 1976).

1791 Embora cavalos adultos com salmonelose aguda frequentemente apresentem
1792 histórico de estresse, potros mesmo sem histórico de estresse apresentam maior
1793 susceptibilidade a infecção (Palmer e Benson, 1984; Burgess e Morley, 2014). Um dos
1794 principais fatores de risco em cavalos adultos é a alteração da microbiota intestinal e, no
1795 caso de potros, é a microbiota que se encontra em desenvolvimento (Palmer e Benson,
1796 1984).

1797 A colonização do trato gastrintestinal inicia logo após o nascimento. As
1798 contagens são elevadas na cavidade oral, reduzem no estômago e aumentam
1799 dramaticamente no intestino delgado distal e cólon (Smith, 1981; Palmer et al. 1985;
1800 Traub-Dargatz et al. 1990; Spier, 1993). Há considerável diferença na população de
1801 bacteriana ao longo do trato gastrintestinal. No estômago há predomínio de bactérias
1802 aeróbicas gram-positivas. No intestino delgado distal há predomínio de bactérias gram-
1803 negativas como coliformes e anaeróbicas como *Fusobacterium*, *Bacteroides* e
1804 *Clostridium*. No cólon predominam bactérias anaeróbicas como *Bacteroides*,
1805 *Bifidobacter*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*. Protozoários estão
1806 presentes em elevados números no ceco e cólon ascendente e, posteriormente,
1807 diminuem no cólon menor (Smith, 1981; Palmer et al. 1985; Traub-Dargatz et al. 1990;
1808 Spier, 1993).

1809 As bactérias e os protozoários presentes na microbiota produzem ácidos graxos
1810 de cadeia curta como acético, propiônico e butírico que são utilizados como substrato
1811 energético pela microbiota. Diminuição dos ácidos graxos pode resultar em atrofia das
1812 vilosidades intestinais e predispor as lesões da mucosa. Os ácidos graxos auxiliam na
1813 prevenção da multiplicação exacerbada de bactérias patogênicas (Smith, 1981; Palmer
1814 et al. 1985; Traub-Dargatz et al. 1990; Spier, 1993).

1815 Alterações na motilidade intestinal e produção de ácidos graxos voláteis pela
1816 microbiota normal podem aumentar a capacidade de *Salmonella* spp. aderir a mucosa
1817 intestinal e proliferar (Cohen et al. 1995; Ernst et al. 2004; Ward et al. 2005). A
1818 alteração da microbiota do trato gastrointestinal dos animais pode ocorrer devido a
1819 utilização de antimicrobianos, mudanças alimentares e estresse (Cohen et al. 1995;
1820 Ernst et al. 2004; Ward et al. 2005).

1821 O estresse resulta em alterações da população da microbiota especialmente pela
1822 redução dos micro-organismos anaeróbios. A administração de antimicrobianos reduz a
1823 dose de *Salmonella* spp. necessária para a indução da doença nos animais (Baker, 1973;
1824 Owner et al., 1980; Hird et al., 1984). A associação da antibioticoterapia e a ocorrência
1825 de salmonelose nos equinos deve-se a eliminação da microbiota competitiva antagonista
1826 a *Salmonella* spp. (Baker, 1973; Owner et al., 1980; Hird et al., 1984).

1827 Há evidências que cavalos com salmonelose apresentam disbiose quando
1828 comparados aos cavalos saudáveis. Significativa diferença na população de
1829 *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Verrucomiconia* foram encontradas em
1830 estudo que avaliou o microbioma em cavalos com colite associado a salmonelose ou
1831 induzida por antibioticoterapia (Arnold et al., 2019).

1832 O estresse possui papel chave no início da doença clínica (Begg et al., 1988) e os
1833 fatores de risco associados a infecção incluem: doenças gastrointestinais (cólica),
1834 hospitalização, procedimentos cirúrgicos (especialmente cirurgia do sistema
1835 gastrointestinal), procedimentos anestésicos, doenças concomitantes, transporte, terapia
1836 antimicrobiana de amplo espectro e tempo de antibioticoterapia, alterações alimentares,
1837 privação de água e alimento, treinamento em excesso, desmame, elevada carga
1838 parasitária, tratamentos anti-helmínticos, convivência com outras espécies domésticas,
1839 elevada densidade populacional, estresse gestacional, processo de adaptação a novos
1840 ambientes e desmame (Baker, 1970; Morse et al., 1976, Smith, 1981; Begg et al., 1988;
1841 McCain et al., 1990; Spier, 1993; Martelli et al., 2018).

1842 Estes fatores resultam em período longo de eliminação de *Salmonella* spp. nas
1843 fezes podendo persistir por até 19 dias (McCain et al., 1990).

1844 Muitos fatores estão associados ao risco de isolamento da *Salmonella* spp. em
1845 animais hospitalizados incluindo diarreia, cólica, febre, contagem alterada de leucócitos,
1846 alteração na dieta, impactação de cólon, jejum, tratamento com antimicrobianos,
1847 elevada temperatura ambiental, utilização de equipamentos de uso comum como
1848 termômetros e sondas nasogástricas, cirurgias (especialmente abdominais),
1849 procedimentos anestésicos, transporte, exposição aos animais portadores (Hird et al.,
1850 1984; Begg et al., 1988; Traub-Dargatz et al., 1990; Hartmann et al., 1996; Ravary et
1851 al., 1998; House et al., 1999; Schott et al., 2001; Ward et al., 2003).

1852 A maioria dos fatores de risco está associada a presença de fatores estressores
1853 que aumentam a susceptibilidade a infecção ou que promovem a reativação e
1854 eliminação da bactéria nas fezes (Begg et al., 1988; Burgess e Morley, 2014).

1855 A taxa de morbidade e mortalidade dos animais em surtos de doença
1856 nosocomiais dependem do sorovar envolvido (Schott et al., 2001). A associação entre a
1857 eliminação da *Salmonella* spp. nas fezes e a presença de sintomatologia clínica nos
1858 animais não foi até o momento claramente definida (Hird et al., 1984; Mainar-Jaime et
1859 al., 1998; House et al., 1999; Ward et al., 2003).

1860 Estudo realizado no Hospital Veterinário de Davis, Califórnia nos Estados
1861 Unidos, após surto de salmonelose em animais internados avaliou a associação entre a
1862 eliminação de *Salmonella* spp. nas fezes e a gravidade dos sinais clínicos nos animais
1863 eliminadores e a avaliação da taxa de mortalidade desses animais. Dados de 1.446
1864 animais hospitalizados foram obtidos e *Salmonella* spp. foi isolado em 6,3% dos
1865 animais, sendo os sorovares mais prevalentes o *S. Typhimurium* e *S. Krefeld*. Os
1866 resultados do estudo indicaram que a eliminação da *Salmonella* spp. nas fezes durante a
1867 hospitalização não teve impacto na taxa de mortalidade dos animais. Contudo, foi
1868 observada maior mortalidade em animais que eliminavam *S. Typhimurium* ou múltiplos
1869 sorovares quando comparado aos animais que eliminavam *S. Krefeld* ou outros
1870 sorovares menos frequentes (Mainar-Jaime et al., 1998).

1871 Estudo da Universidade do Colorado em animais hospitalizados, constatou que a
1872 eliminação de *Salmonella* spp. durante a hospitalização pode ser indicador de risco de
1873 morte a longo prazo desses animais, principalmente em animais que, posteriormente,
1874 apresentaram doença gastrointestinal. O risco de morte é influenciado pelo sorovar
1875 envolvido e pelas medidas de biossegurança implementadas (Hartnack et al., 2012).

1876 Estudo que avaliou a sazonalidade e as taxas de mortalidade equinos
1877 hospitalizados nos Estados Unidos demonstrou que 60,4% das mortes dos animais foram
1878 causadas pelo sorovar *S. Typhimurium*, (Carter et al., 1986). Estudo realizado em
1879 animais naturalmente infectados identificou maior taxa de mortalidade e prognóstico
1880 reservado em infecções agudas e hiperagudas pelos sorovares *S. Anatum* e *S.*
1881 *Typhimurium* (Morse et al., 1976).

1882 Na Inglaterra estudo realizado identificou que 70% dos casos de mortes em
1883 equinos foram causados pelo sorovar *S. Typhimurium* (Wray et al., 1981).

1884 Nos Estados Unidos, surtos em propriedades destinadas a reprodução, locais que
1885 apresentam elevada taxa de lotação e possuem trânsito mais intenso de animais, foram
1886 relatados (Smith 1981; Walker et al., 1991; Walker et al., 1995).

1887 A principal fonte de infecção para os potros são as éguas e outros equinos,
1888 embora outros animais e o meio ambiente possam servir como fontes de infecção
1889 (Baker, 1970; Palmer e Benson, 1984; Traub-Dargatz et al., 2000; Zimmel, 2008;
1890 Mallicote et al., 2012). Normalmente a égua e o seu potro são positivos para o micro-
1891 organismo nas fezes, porém é raro que ambos apresentem sinais clínicos (Palmer e
1892 Benson, 1984; Traub-Dargatz et al., 2000; Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012). O
1893 parto é fator estressante para a égua, podendo o animal eliminar *Salmonella* spp. em um
1894 curto período após a parição, mesmo com resultados de cultivos bacteriológicos de
1895 fezes negativos antes do parto (Walker et al., 1995; Slovis, 2019). Durante a segunda
1896 fase do parto as éguas defecam, contaminando as membranas fetais, região perineal e
1897 úbere podendo o potro se infectar no momento da amamentação, com 12 horas de vida,
1898 se *Salmonella* spp. estiver nas fezes (Slovis, 2019).

1899 Potros e animais jovens são mais susceptíveis e frequentemente afetados pela
1900 forma clínica e hiperaguda da doença, caracterizada por febre, taquicardia, hiperpneia,
1901 leucopenia, anorexia e choque séptico, quando comparados aos animais adultos (Baker,
1902 1970; Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Walker et al., 1991; Walker et al., 1995;
1903 Traub-Dargatz e Besser, 2007; Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012).

1904 Potros estressados apresentam maior risco de adquirirem salmonelose (Powell et
1905 al., 1988; Walker et al., 1991). A septicemia é mais comum em neonatos e em potros
1906 com 1 a 4 meses de idade do que em animais adultos (Stuart et al., 1973; Wenkoff,
1907 1973; Kikuchi et al., 1982; Vaissaire et al., 1982; Walker et al., 1991).

1908 Em um surto de salmonelose em animais da raça Puro Sangue Inglês no estado
1909 americano da Califórnia, potros com menos de oito dias exibiram sinais clínicos de

1910 depressão, anorexia, diarreia e morte. O sorovar responsável pelo surto foi *S. Ohio*,
1911 sendo o mesmo isolado em 27,8% das éguas. A ausência de sinais clínicos nas éguas
1912 permitiu contaminação ambiental e infecção dos potros (Walker et al., 1991).
1913 Posteriormente, a caracterização genotípica e fenotípica do sorovar *S. Ohio* responsável
1914 pelo surto neonatal evidenciou que o alimento foi a fonte de contaminação das éguas
1915 (Walker et al., 1995).

1916 Surtos ocorrem mais frequentemente durante os meses de temperatura e umidade
1917 elevadas (Spier, 1993). Estudos demonstram sazonalidade na ocorrência da infecção
1918 (Smith, 1981). No Canadá, estudo evidenciou maior ocorrência na primavera durante o
1919 mês de abril, e o sorovar mais prevalente foi o *S. Typhimurium* (Ravary et al., 1998).

1920 Nos Estados Unidos, há incidência sazonal, sendo maior durante os meses de
1921 maio até início de outubro (Smith, 1981). Maiores níveis de eliminação de *Salmonella*
1922 spp. durante o final do verão e início do outono e menor na primavera já foi relatado por
1923 diversos autores (Roberts e O'Boyle, 1981; Smith 1981; Carter et al., 1986; Traub-
1924 Dargatz et al., 2000; Burgess e Morley, 2014).

1925 A maior prevalência nessa época do ano deve-se as características ideais de
1926 temperatura (37°C-43°C) e umidade para multiplicação da bactéria. As diferenças
1927 regionais podem ser resultado da sobrevivência e multiplicação da bactéria no ambiente,
1928 associado ao estresse térmico sofrido pelos cavalos durante períodos de elevada
1929 temperatura e umidade, que favorecem a eliminação da bactéria pelos animais
1930 portadores e aumentam a susceptibilidade dos hospedeiros (Morse et al. 1976; Carter e
1931 Chengappa, 1990; Spier, 1993; Losinger et al., 2002). Sendo assim, o calor e umidade
1932 são fatores que contribuem para maior incidência da doença e ocorrência de surtos
1933 (Morse et al., 1976; Smith, 1981). Além dos fatores climáticos, há durante o verão e
1934 outono um aumento do transporte de animais para atividades esportivas que, combinado
1935 as alterações alimentares desse período, podem causar aumento na excreção de
1936 *Salmonella* spp. pelos portadores resultando em aumento da contaminação ambiental
1937 surtos (Morse et al., 1976; Smith, 1981).

1938 *Salmonella* spp. pode persistir por longos períodos no meio ambiente,
1939 dependendo do sorovar, teor de umidade e das condições de temperatura (mais de um
1940 ano em fezes de bovinos e até quatro meses na água). A bactéria pode persistir no
1941 material fecal por meses a anos dependendo do sorovar, umidade e condições de
1942 temperatura. *S. Dublin* persiste em fezes secas de equinos por até cinco anos, *S.*
1943 *Cholerasuis* foi mais persistente em fezes secas (13 meses) quando comparada a fezes

1944 úmidas (três meses). A bactéria multiplica em temperaturas desde 7°C a 45°C e, em
1945 faixas de pH amplas entre 6,5 a 7,5. É sensível a luz solar direta e aos desinfetantes
1946 como compostos fenólicos, iodóforos e hipoclorito de sódio (Morse et al., 1976; Smith,
1947 1981; Spier, 1993).

1948 O papel da contaminação ambiental na transmissão das infecções nosocomiais
1949 de *Salmonella* spp. foi constatada através de estudo que realizou análises em amostras
1950 clínicas e ambientais durante um período de nove anos. A permanência do sorovar *S.*
1951 *Infantis* responsável por dois surtos no Hospital Veterinário do Colorado foi
1952 evidenciada no ambiente mesmo após a implementação de medidas de monitoramento e
1953 desinfecção (Dunowska et al., 2007).

1954 Persistência ambiental em Hospital Veterinário da Austrália por um período de
1955 seis anos do sorovar *S. Heidelberg* multirresistente foi descrita e, embora tenha ocorrido
1956 uma variação genética inicial, houve com o passar os anos uniformidade dos isolados
1957 sugerindo a seleção de um genótipo estável no hospital (Amavisit *et al.* 2001).

1958 Houve isolamento do mesmo sorovar *S. Typhimurium* de dois cavalos
1959 estabulados na mesma cocheira no Hospital Veterinário da Universidade de Michigan
1960 em períodos diferentes com 4 meses de intervalo (Schott et al., 2001).

1961 Estudo no Hospital Veterinário do Chile também demonstrou a persistência
1962 ambiental de amostras de *Salmonella* spp. multirresistentes enfatizando a importância
1963 da implementação e manutenção de programas de biossegurança para a prevenção da
1964 doença nos hospitais, transmissão zoonótica e disseminação global de cepas
1965 multirresistentes (Soza-Ossandón et al., 2020).

1966 *S. Agona* multirresistente isolada de animais com diarreia de 56 propriedades do
1967 estado americano de Kentucky foram recuperadas de animais de seis propriedades
1968 durante 2 anos, indicando a persistência da bactéria no ambiente da fazenda, nos
1969 equinos, em outros animais residentes da fazenda ou na possibilidade de introduções
1970 repetidas de fontes de contaminação externas (Donahue, 1986).

1971

1972 **2.11 Prevalência**

1973

1974 A prevalência na população equina depende da região geográfica, estação do
1975 ano, população amostrada e método de diagnóstico utilizado (Smith 1981; Quinn et al.,
1976 2011). Estima-se que a incidência de salmonelose em equinos varie de 0,36 a 27% e que
1977 aproximadamente 10% da população equina dos Estados Unidos foi ou é infectada

1978 (Morse et al., 1976; Roberts e O'Boyle, 1981; Palmer e Benson, 1984). Estudos em
1979 populações de cavalos não hospitalizados demonstraram que até 5% dos animais
1980 apresentarão cultivo bacteriológico de fezes positivo (Baker, 1970; Begg et al., 1988;
1981 Roberts e O'Boyle, 1981; Traub-Dargatz et al., 1990; Spier, 1993). Animais portadores
1982 assintomáticos que eliminam *Salmonella* spp. foi estimado em 1,65% na Austrália
1983 (Roberts e O'Boyle, 1981), 0,2 a 2% nos Estados Unidos (Traub-Dargatz et al., 2000) e
1984 de 1,5% na Inglaterra (Baker, 1970). *Salmonella* spp. em potros sem diarreia não é
1985 extensivamente estudado e relatos informam prevalência de 0,02 a 1% (Dwyer et al.,
1986 1990; Netherwood et al., 1996; Tillotson et al., 2002; Dunkel e Wilkins, 2004).

1987 Poucos estudos descrevem a eliminação de *Salmonella* spp. em animais
1988 residentes em propriedades (Roberts e Boyle, 1981; Begg et al., 1988; Walker et al.,
1989 1991; Walker et al., 1995; Traub-Dargatz et al., 2000). Estudo conduzido nos Estados
1990 Unidos em cavalos não hospitalizados observou 0,8% de animais eliminadores de
1991 *Salmonella* spp. (Traub-Dargatz et al., 2000). Neste estudo foram avaliadas 972
1992 propriedades com ≥ 3 animais em 28 estados americanos, onde uma amostra de fezes de
1993 cada animal selecionado foi cultivada. Dentre os fatores de risco avaliados e que
1994 tiveram impacto no aumento da eliminação da bactéria nas fezes dos animais das
1995 propriedades destacam-se a estação do ano, falta de higiene das instalações, tipo de
1996 criação (especialmente propriedades destinadas a reprodução) e introdução de animais
1997 sem instituição de quarentena (Traub-Dargatz et al., 2000). Os resultados da
1998 investigação demonstraram que as propriedades podem reduzir as taxas de infecção e
1999 eliminação de *Salmonella* spp. nas fezes dos animais não permitindo que animais que
2000 não passaram por quarentena sejam incluídos no rebanho (Traub-Dargatz et al., 2000;
2001 Losinger et al., 2002).

2002 Na Austrália, estudo realizou múltiplas amostragens de fezes de éguas de uma
2003 propriedade rural que foram vacinadas no final da gestação com vacina inativa contra
2004 *Salmonella* Typhimurium não obtendo nenhum isolado nas amostras de fezes
2005 amostradas desses animais (Begg et al., 1988).

2006 Embora a identificação de portadores assintomáticos em estudos que avaliam a
2007 excreção via fezes seja baixa, este cenário não representa o número real de animais
2008 portadores, uma vez que a eliminação do micro-organismo via fezes ocorre de forma
2009 intermitente e em baixos números (Begg et al., 1988). Estudo realizado em animais
2010 *post-mortem* revelou taxa superior a 20% de animais portadores assintomáticos (Ingram
2011 e Edwards, 1980; Smith, 1981; Begg et al., 1988;). Amostras de íleo, ceco, cólon e reto

2012 de 50 cavalos submetidos a necrópsia na Universidade de Pretória foram cultivados para
2013 identificação de *Salmonella* spp., havendo a identificação de 34% de animais positivos,
2014 sendo o sorovar *S. Hayindogo* dominante. Outro estudo realizado em abatedouro nos
2015 Estados Unidos, revelou a presença de 71,4% de animais positivos em cultivos para 15
2016 sorovares diferentes, não havendo isolamento de *S. Typhimurium*. Os sorovares mais
2017 prevalentes foram *S. Albani*, *S. Anatum*, *S. Branderup*, *S. Havana*, *S. Montevideo*, *S.*
2018 *Agona*, *S. Cerro*, *S. Derby*, *S. Munchen*, *S. Oranienburg* (McCain e Powell, 1990; Spier,
2019 1993). Os portadores assintomáticos albergam os micro-organismos nos linfonodos
2020 mesentéricos, porém o impacto de animais portadores em equinos não é completamente
2021 compreendido (Morse et al., 1976; Spier, 1993).

2022 Numerosos relatos descrevem surtos de salmonelose em hospitais veterinários
2023 com elevadas taxas de mortalidade, fontes de infecção em comum, fechamento do
2024 centro de referência e instituição de medidas intensivas de descontaminação (Morse et
2025 al., 1976; Roberts e O' Boyle, 1981; Hird et al., 1984; Ikeda e Hirsh, 1985; Palmer et
2026 al., 1985; Carter et al., 1986; Begg et al., 1988; Castor et al., 1989; Cohen et al., 1996;
2027 Hartman et al., 1996; Tillotson et al., 1997; Ewart et al., 2001; Schott et al., 2001; Ward
2028 et al, 2005; Martelli et al., 2018).

2029 A presença de *Salmonella* spp. é preocupante em hospitais de equinos devido ao
2030 elevado número de indivíduos susceptíveis, ao potencial de desenvolvimento de
2031 isolados multirresistentes e ao risco de transmissão e comprometimento da saúde dos
2032 seres humanos contactantes (Hird et al., 1984; Palmer et al., 1985; Ewart et al., 2001).
2033 Durante os surtos há grande contaminação ambiental e comumente os isolados dos
2034 pacientes e do ambiente são fenotipicamente semelhantes, ou seja, mesmo sorovar e
2035 com o padrão de susceptibilidade antimicrobiana semelhante (Burgess e Morley, 2014).

2036 As infecções nosocomiais de cavalos ocorrem após a exposição às fontes de
2037 infecção como água e alimento contaminados ou pelo contato com outros animais
2038 infectados, porém a fonte do patógeno em alguns casos não é possível de ser
2039 determinada (Hird et al., 1984; Palmer et al., 1985).

2040 O potencial de exposição a *Salmonella* spp. é aumentado em locais de elevada
2041 densidade populacional, como nos hospitais veterinários. Adicionalmente, cavalos
2042 admitidos em hospitais são mais susceptíveis a infecção e sinais clínicos, devido a
2043 imunossupressão associado a presença de doenças concomitantes e estresse (Ewart et
2044 al., 2001; Losinger et al., 2002). A prevenção da disseminação entre os animais
2045 hospitalizados e outros animais e seres humanos baseia-se na identificação das fontes de

2046 infecção (Ewart et al., 2001). A presença de eliminadores subclínicos em uma
2047 população de animais hospitalizados aumenta o risco de infecção e desenvolvimento da
2048 doença clínica em animais no ambiente hospitalar (Hird et al., 1984). A principal fonte
2049 de infecção para os equinos são as fezes de outros animais e alimento e ambiente
2050 contaminado (Ewart et al., 2001; Spier, 1993). Diarreia e colite devido a outras causas
2051 podem ser complicadas pela infecção por *Salmonella* spp. (Spier, 1993).

2052 As estimativas da prevalência de eliminação da *Salmonella* spp. em cavalos
2053 admitidos em hospitais veterinários são normalmente realizadas durante condições de
2054 surto (Ward et al., 2003). A prevalência de animais eliminadores em hospitais
2055 veterinários possui grande variação de 1,7% a 23,8% (Roberts e O'Boyle, 1981; Hird et
2056 al., 1984; Palmer et al. 1985; Carter et al., 1986; Ikeda e Hirsh, 1985; Begg et al., 1988;
2057 Traub-Dargatz et al. 1990; Cohen et al. 1994; Mainar-Jaime et al. 1998; Ravary et al.,
2058 1998; House et al., 1999; Ewart et al., 2001; Kim et al. 2001; Ernst et al. 2004; Ward et
2059 al., 2003; Ward et al. 2005; Kemp-Symonds, 2016).

2060 A prevalência de animais portadores eliminadores na população hospitalar é
2061 menor no momento da admissão hospitalar aumentando durante a hospitalização
2062 (Burgess e Morley, 2014).

2063 Estudo na Universidade da Califórnia avaliando os surtos ocorridos evidenciou
2064 prevalência de eliminação fecal de 1,7% (Carter et al., 1986; Ikeda e Hirsh, 1985). Na
2065 Universidade do estado americano de Michigan foi descrita a eliminação fecal do
2066 patógeno em 5,5% dos animais internados avaliados, sendo o sorovar mais prevalente *S.*
2067 *Typhimurium*. No momento da admissão hospitalar, 43% dos animais que eliminaram
2068 *Salmonella* spp. nas fezes apresentaram diarreia, 40% cólica e 17% não apresentavam
2069 sinais clínicos (Ewart et al., 2001).

2070 No Canadá, estudo realizado na universidade de Montreal, demonstrou 1,7% de
2071 animais positivos no cultivo bacteriológico de fezes no momento da admissão em
2072 hospital, houve sazonalidade da infecção apresentando maior incidência no mês de abril
2073 e o sorovar mais prevalente foi o *S. Typhimurium* (Ravary et al., 1998).

2074 Na Austrália, estudo realizado na Universidade de Queensland, detectou
2075 prevalência de 23,8% de animais eliminadores entre os animais internados, sendo o
2076 sorovar mais prevalente *S. Anatum* (Roberts e O'Boyle, 1981).

2077 No Reino Unido, 2,6% dos equinos no momento da admissão em hospital
2078 veterinário apresentaram resultado positivo para eliminação da bactéria nas fezes
2079 (Kemp-Symonds, 2016).

2080 A prevalência de eliminação da *Salmonella* spp. foi estudada em animais
2081 hospitalizados nos Estados Unidos onde amostras fecais de equinos no momento da
2082 admissão e de animais internados foram cultivadas. *Salmonella* spp. sorovar *S.* Newport
2083 foi o mais comumente isolado. A prevalência de eliminação da *Salmonella* spp. no
2084 momento da admissão foi de 0,5% e a incidência de eliminação durante a hospitalização
2085 foi de 4,3% (Ward et al., 2003). Concluiu-se que os animais admitidos podem
2086 apresentar infecção subclínica e serem fontes de infecção para outros animais do
2087 hospital ou até mesmo adoecerem (Ward et al., 2003).

2088 No caso de surtos em animais hospitalizados usualmente há dominância de um
2089 sorovar entre os animais afetados sugerindo infecção nosocomial, ao contrário do que
2090 ocorre nas infecções em propriedades onde normalmente não há predomínio de sorovar
2091 (Traub-Dargatz et al., 2000; Ward et al., 2003). Estudos realizados em animais
2092 hospitalizados e onde não houve predominância de sorovar sugerem que os animais
2093 positivos eram endemicamente infectados com *Salmonella* spp. antes da hospitalização,
2094 representando fonte de infecção de *Salmonella* spp. para o hospital (Ward et al., 2003).

2095 Estudos epidemiológicos investigaram os fatores de risco associados ao
2096 desenvolvimento da infecção em equinos hospitalizados (Hird et al., 1984; Palmer et al.,
2097 1985; Begg et al., 1988; Traub-Dargatz et al., 1990; House et al., 1999). Os fatores de
2098 risco associados a eliminação da *Salmonella* spp. no estudo em 143 animais internados
2099 incluíram diarreia no momento da admissão no hospital, febre e alteração na dieta. Os
2100 sorovares mais prevalentes foram *S.* Oranienburg e *S.* Newport (Traub-Dargatz et al.,
2101 1990).

2102 Na Austrália, estudo realizado no Hospital Veterinário da Universidade de
2103 Sidney revelou 2,8% de animais eliminadores de *Salmonella* spp. nas fezes. Os
2104 sorovares *S.* Typhimurium, *S.* Anatum e *S.* Tennessee foram os mais prevalentes (Begg
2105 et al., 1988). Estudo com animais hospitalizados em centro de terapia intensiva
2106 identificou 4,9% de animais eliminadores de *Salmonella* spp. nas fezes. O tempo entre a
2107 admissão e o início da eliminação foi significativamente maior em cavalos que
2108 eliminavam sorovar *S.* Krefeld que os animais que eliminavam sorovar *S.* Typhimurium
2109 (House et al., 1999).

2110 Estudo realizado por Hird et al., (1984) durante surto de salmonelose em animais
2111 hospitalizados demonstrou que animais que receberam antimicrobianos parenterais
2112 apresentaram 10,9 vezes maior risco de isolamento da bactéria nas fezes que animais
2113 que não receberam antibioticoterapia. Animais que foram intubados tiveram 3,9 vezes

2114 maior risco e animais que tiveram quadro clínico de cólica apresentaram 2,2 vezes
2115 maior risco de isolamento da bactéria nas fezes que animais que apresentam outros
2116 sinais clínicos durante a internação (Hird et al., 1984).

2117 Estudo realizado na Universidade da Pensilvânia confirmou a possibilidade de
2118 animais com cólica eliminarem *Salmonella* spp. no momento da hospitalização (Palmer
2119 et al., 1985).

2120

2121 **2.12 Sinais clínicos**

2122

2123 *Salmonella* spp. é reconhecido como agente de enterite e colite em muitas
2124 espécies, incluindo potros e cavalos adultos (Frederick et al., 2009). Os sinais clínicos
2125 associados a salmonelose em equinos variam de doença subclínica a morte hiperaguda
2126 (Morse et al., 1976; Smith 1981; McCain e Powell, 1990; Van Duijkeren et al., 1995). A
2127 gravidade da infecção por *Salmonella* spp. em equinos varia com a idade, fatores
2128 predisponentes e sorovar envolvido.

2129 Potros são considerados mais susceptíveis a salmonelose que os animais adultos
2130 (Smith 1981; Walker et al., 1991; Walker et al., 1995). Os sinais clínicos em potros
2131 podem variar de diarreia branda a septicemia fulminante (Smith, 1981; Palmer e
2132 Benson, 1984; Spier, 1993; Magdesian, 2005; Juffo et al., 2016; Martelli et al., 2018).

2133 *Salmonella* spp. caracteriza-se como agente primário de doença especialmente
2134 em potros com menos de seis meses de idade, que podem sucumbir por septicemia, com
2135 ou sem diarreia (Morse et al., 1976; Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Magdesian,
2136 2005; Martelli et al., 2018) e de enterocolite/diarreia em equinos de todas as idades
2137 (Dunkel e Wilkins, 2004; Magdesian, 2005; Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012).

2138 Muitas infecções em equinos permanecem subclínicas (Smith, 1981; Palmer e
2139 Benson, 1984; Martelli et al., 2018). Em adultos saudáveis a infecção normalmente é
2140 subclínica e auto-limitante, podendo resultar em doença clínica em animais
2141 imunocomprometidos e sob estresse, sendo a doença caracterizada por febre e diarreia
2142 (Owner et al., 1980; Smith 1981; Palmer et al., 1985; McCain e Powell, 1990; Walker et
2143 al., 1991; Van Duijkeren et al., 1995; Losinger et al., 2002; Martelli et al., 2018).

2144 Segundo Smith (1981), os sinais clínicos nos animais com salmonelose incluem:
2145 (1) portadores assintomáticos que podem ou não eliminar o micro-organismo nas fezes,
2146 (2) síndrome leve caracterizada por febre, anorexia e depressão (3) diarreia severa
2147 aguda (4) septicemia aguda, (5) combinação de diarreia e septicemia

2148 Na infecção pela *S. Abortusequi* os sinais clínicos ocorrem no final da gestação e
2149 as infecções normalmente são inaparentes até 2 dias antes, ou no dia do abortamento. O
2150 potro nasce vivo, porém normalmente apresenta severa pneumonia e enterite após o
2151 nascimento (Martelli et al., 2018).

2152

2153 **2.12.1 Infecções assintomáticas**

2154

2155 Animais portadores assintomáticos albergam as bactérias nos linfonodos
2156 mesentéricos ou na mucosa intestinal (Smith 1981). Duas categorias de infecções
2157 assintomáticas podem ocorrer: aquelas onde ocorre a eliminação fecal do agente, sendo
2158 os animais denominados de portadores ativos e, aquelas infecções sem eliminação da
2159 bactéria nas fezes onde os animais são chamados de portadores passivos ou silenciosos
2160 (Smith, 1981; McCain e Powell, 1990; Van Duijkeren et al., 1995). Os portadores
2161 passivos podem, após eventos estressantes, eliminar as bactérias nas fezes e
2162 apresentarem, ou não, sintomatologia clínica (Smith, 1981; McCain e Powell, 1990;
2163 Van Duijkeren et al., 1995). Os portadores assintomáticos que eliminam o agente no
2164 ambiente podem servir como fonte de infecção a outros cavalos além de promoverem a
2165 contaminação ambiental (Smith et al., 1981; Losinger et al., 2002).

2166 A eliminação das bactérias nas fezes dos animais ocorre em pouca quantidade e
2167 de forma intermitente, por isso múltiplos cultivos bacteriológicos de fezes são
2168 necessários para o sucesso do isolamento (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984;
2169 Martelli et al., 2018).

2170 Estudos demonstraram que os sorovares mais comumente isolados de animais
2171 com infecções assintomáticas raramente causam infecções graves e que os sorovares
2172 mais comumente encontrados em doenças severas não são frequentemente encontrados
2173 em portadores assintomáticos (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Martelli et al.,
2174 2018).

2175

2176 **2.12.2 Febre, anorexia e depressão**

2177

2178 Há alteração da consistência das fezes. Nos estágios iniciais da infecção os
2179 animais podem ser neutropênicos. A infecção pode ser autolimitante com duração de
2180 quatro a cinco dias, por isso nesses casos a antibioticoterapia não é indicada. Os animais
2181 precisam ser monitorados para a evolução e agravamento dos sinais clínicos e o

2182 isolamento é imperativo, pois os animais podem eliminar o micro-organismo nas fezes
2183 por um período de poucos dias a muitos meses (Smith, 1981; Dunkel e Wilkins, 2004;
2184 Magdesian, 2005; Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012).

2185

2186 **2.12.3 Diarreia Aguda**

2187

2188 A diarreia é o sinal clínico mais comum de salmonelose em equinos sendo
2189 frequentemente precedida por anorexia, febre, cólica e leucopenia (Smith 1981; McCain
2190 e Powell, 1990; Van Duijkeren et al., 1995).

2191 Após a infecção e multiplicação da bactéria, os sinais clínicos iniciam com
2192 desconforto abdominal e anorexia que precedem a diarreia. Alterações de patologia
2193 clínica incluem neutropenia absoluta que pode se desenvolver antes ou após a diarreia.
2194 Febre (39,5°C a 41,5°C) é comum, elevação da taxa de pulso, e as mucosas podem ser
2195 inicialmente pálidas e evoluírem para cianóticas (Smith 1981; McCain e Powell, 1990;
2196 Van Duijkeren et al., 1995).

2197 Há aumento da frequência e volume das fezes, apresentando usualmente aquosa
2198 e explosiva e com odor fétido, associado a necrose epitelial (Smith 1981; McCain e
2199 Powell, 1990; Van Duijkeren et al., 1995). Pode ocorrer presença de muco e fibrina,
2200 mas a presença de sangue e hemorragia é rara. Potros apresentam tendência a rápida
2201 desidratação, evidenciada pelo afundamento dos globos oculares e prega prolongada da
2202 pele (Robinson, 2002; Slovis et al., 2014).

2203 Casos de enterite comumente apresentam sinais de síndrome da resposta
2204 inflamatória sistêmica, incluindo depressão, diminuição do reflexo de sucção, febre,
2205 hiponatremia, fraqueza muscular, disfagia, diminuição do ganho de peso, taquicardia,
2206 bradicardia, taquipneia, tremores, incoordenação, congestão de mucosas, diminuição do
2207 tempo de preenchimento capilar, petéquias, coronite (Robinson, 2002; Paradis, 2006;
2208 Slovis et al., 2014). Quando os sinais clínicos progridem, coma e morte podem ocorrer
2209 (Robinson, 2002; Paradis, 2006). Se o animal sobrevive, a diarreia diminui em um
2210 período de semanas e há recuperação do ganho de peso. Contudo, se a diarreia for
2211 grave, as lesões do ceco e cólon tornam-se permanentes.

2212 O desenvolvimento de aderências na superfície das serosas pode ocorrer e as
2213 cicatrizes na parede intestinal podem ser severas e levar ao aparecimento de cólicas
2214 meses após a aparente recuperação clínica (Smith 1981; McCain e Powell, 1990; Van
2215 Duijkeren et al., 1995).

2216 A diarreia crônica é raramente causada por *Salmonella* spp. embora animais que
2217 sobrevivam a fase aguda da doença também possam progredir para a forma crônica
2218 persistente de diarreia (Smith, 1981) e, ocasionalmente um potro infectado possa
2219 apresentar o quadro clínico por um período de 1 a 2 meses (Palmer e Benson, 1984).

2220 Diarreia crônica associada a salmonelose em equinos ocorre somente após um
2221 episódio agudo acompanhado de severas alterações na parede intestinal. Se a enterite
2222 ocorrer durante um importante período de desenvolvimento da microbiota intestinal do
2223 potro, essa alteração da microbiota prolonga o período de diarreia nesses animais
2224 (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Magdesian, 2005; Mallicote et al., 2012). Esses
2225 potros não eliminam *Salmonella* spp. e não apresentam lesões ativas, porém em raras
2226 ocasiões, o dano ao trato gastrintestinal pode ser grave o suficiente, podendo levar a
2227 perfurações e manifestações crônicas de distensão abdominal e crescimento deficiente
2228 (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Magdesian, 2005; Mallicote et al., 2012).

2229 O prognóstico para cavalos que desenvolvem a forma crônica é ruim se não
2230 houver melhora dentro de 4 a 6 semanas (Smith, 1981).

2231

2232 **2.12.4 Septicemia aguda e combinação com diarreia**

2233

2234 A septicemia é mais comum em potros, especialmente em neonatos, mesmo
2235 quando os sinais clínicos sejam apenas diarreia branda (Lester 2003; Magdesian, 2005;
2236 Zimmel, 2008), podendo ocorrer também em animais adultos que apresentem quadro de
2237 diarreia (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Magdesian, 2005; Martelli et al., 2018).

2238 Septicemia e endotoxemia podem se desenvolver comumente em animais com
2239 diarreia pela translocação bacteriana e absorção de endotoxinas a partir do epitélio
2240 lesionado ou pela liberação de endotoxinas na circulação de animais bacterêmicos
2241 (Smith, 1981; Martelli et al., 2018). O elevado risco de bacteremia deve-se aos
2242 sorovares enteroinvasivos, especialmente pelo sorovar *S. Typhimurium* (Magdesian,
2243 2005).

2244 Os equinos são particularmente sensíveis ao choque endotóxico pela presença da
2245 LPS da parede levando aos sinais de redução da atividade e responsividade, anorexia e
2246 neutropenia (Martelli et al., 2018).

2247 A forma hiperaguda da infecção é mais comumente encontrada em potros, sendo
2248 caracterizada por febre alta, letargia, severa diarreia e morte que pode ocorrer em dois

2249 ou três dias, a menos que o tratamento efetivo seja realizado precocemente (Smith,
2250 1981; Palmer e Benson, 1984; Martelli et al., 2018).

2251 Estudo no Brasil que confirmou dez casos de salmonelose equinos no Sul do
2252 país, evidenciou que, em 75% dos casos em potros, ocorreu a forma hiperaguda da
2253 doença com rápida progressão e severos sinais clínicos que culminaram com a morte
2254 devido ao choque circulatório (Juffo et al., 2016).

2255 Na forma aguda, os adultos são febris, anoréxicos e desenvolvem diarreia e dor
2256 abdominal por um período de uma a duas semanas, seguido de recuperação ou morte
2257 (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Martelli et al., 2018).

2258 Os potros afetados apresentam variados graus de comprometimento sistêmico
2259 que incluem síndrome séptica, febre, diarreia, desidratação, depressão, redução do
2260 apetite, choque hipotensivo e profunda leucopenia com desvio tóxico a esquerda
2261 (Magdesian, 2005; Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012).

2262 Durante as primeiras 24-48 horas da doença o potro apresenta-se deprimido,
2263 febril, mostrando algum grau de desconforto abdominal, aumento da frequência
2264 cardíaca e membranas mucosas tóxicas (Sanchez et al., 1998; Magdesian, 2005;
2265 Zimmel, 2008).

2266 A diarreia pode ser infrequente ou abundante podendo durar poucos dias ou mais
2267 de quatro semanas (Palmer e Benson, 1984; Zimmel, 2008; Magdesian, 2005). O
2268 quadro entérico pode variar em consistência (pastosa a aquosa) e volume, podendo
2269 conter sangue, iniciando logo após os primeiros sinais clínicos da doença (Palmer e
2270 Benson, 1984; Zimmel, 2008). As fezes podem apresentar odor fétido, provavelmente
2271 devido a putrefação das proteínas perdidas pelo trato gastrintestinal (Palmer e Benson,
2272 1984; Zimmel, 2008; Magdesian, 2005).

2273 A diarreia é um dos sinais clínicos mais comuns em potros com sepse (Hollis et
2274 al., 2008; Sanches et al., 2008; Mallicote et al., 2012). Aproximadamente 50% dos
2275 potros com diarreia clínica com menos de um mês de idade são bacterêmicos (Brewer et
2276 al., 1988; Sanchez et al., 1998; Hollis et al., 2008; Frederick et al., 2009; Mallicote et
2277 al., 2012; Oliver-Spinosa, 2018).

2278 Estudo que avaliou as principais doenças em neonatos no Reino Unido,
2279 evidenciou que a infecção mais comum nesta categoria foi a doença sistêmica associada
2280 a diarreia/colite (Wohlfender et al., 2009).

2281 Outro estudo que investigou a presença de bacteremia em potros com menos de
2282 30 dias de idade que apresentaram diarreia durante a hospitalização, evidenciou que

2283 50% dos animais foram bacterêmicos no momento da admissão hospitalar. Houve a
2284 identificação de 57% de micro-organismos gram-negativos e 43% de gram-positivos
2285 (Hollis et al., 2008).

2286 A septicemia é uma das principais causas de morte em potros com menos de sete
2287 dias de idade, sendo importante a identificação e o tratamento adequado desses animais
2288 (Hollis et al., 2008).

2289 Estudo revelou que 26% dos potros em uma propriedade no Canadá morreram
2290 por septicemia (Haas et al., 1996). Salmonelose em neonatos e em potros com menos de
2291 seis meses é associada a elevada taxa de mortalidade (Netherwood et al., 1996;
2292 Frederick et al., 2009; Mallicote et al., 2012).

2293 Pesquisa realizada no Reino Unido para a investigação das causas de diarreia em
2294 potros obteve baixo isolamento de *Salmonella* spp. porém, a bactéria foi associada a
2295 quadros severos e frequentemente fatais de diarreia em neonatos, no entanto, esta
2296 observação não foi uniformemente verificada em outros estudos (Netherwood et al.,
2297 1996; Dunkel e Wilkins, 2004; Frederick et al., 2009; Mallicote et al., 2012).

2298 Todos os neonatos com diarreia, especialmente os com menos de 30 dias de
2299 idade, devem ser avaliados para a presença de sepse (Paradis, 2006; Hollis et al., 2008).

2300 O isolamento e identificação do micro-organismo utilizando cultura sanguínea
2301 aeróbica e anaeróbica, e teste “in vitro” de sensibilidade aos antimicrobianos nesses
2302 potros é importante, pois a administração precoce de antimicrobianos eficazes está
2303 associada ao aumento de sobrevivência de neonatos bacterêmicos (Robinson, 2002; Paradis,
2304 2006; Hollis et al., 2008). Sendo assim, em contraste aos animais adultos, todos os
2305 neonatos e potros com salmonelose devem ser tratados com antibioticoterapia sistêmica
2306 com comprovada eficácia no teste in vitro de sensibilidade aos antimicrobianos,
2307 podendo incluir aminoglicosídeos ou cefalosporinas de terceira geração (Magdesian,
2308 2005; Zimmel, 2008).

2309 A antibioticoterapia inadequada, alterará a microbiota e permitirá que a
2310 *Salmonella* spp. colonize o trato gastrintestinal com maior sucesso (Palmer e Benson,
2311 1984). Os antimicrobianos terão pouco efeito na eliminação da *Salmonella* spp. do trato
2312 gastrintestinal, sendo assim não reduzirão o curso da diarreia e, também não cessarão a
2313 eliminação fecal da bactéria nas fezes, mas poderão tratar a bacteremia e prevenir as
2314 infecções secundárias em animais com bacteremia (Palmer e Benson, 1984; Spier,
2315 1993).

2316 Os sinais de infecção extra intestinal são frequentes em animais com menos de
2317 dois meses de idade em consequência da bacteremia e incluem: uveíte, sinovite,
2318 osteomielite, fisite, pneumonia e meningite (Magdesian, 2005; Zimmel, 2008; Mallicote
2319 et al., 2012).

2320 Potros com salmonelose, mesmo após a recuperação do quadro de
2321 enterocolite/diarreia, devem ser monitorados quanto ao desenvolvimento de infecções
2322 extra entéricas, particularmente a osteomielite, que infelizmente podem se desenvolver
2323 e persistir mesmo com a instituição de antibioticoterapia (Smith, 1981; Palmer e
2324 Benson, 1984; Magdesian, 2005; Zimmel, 2008). Essas complicações podem não ser
2325 detectadas clinicamente semanas após o início dos sinais entéricos (Smith, 1981;
2326 Robinson, 2002; Paradis, 2006; Zimmel, 2008; Slovis et al., 2014).

2327

2328 **2.13 Patologia Clínica**

2329

2330 O hemograma raramente identifica a causa específica da diarreia, porém
2331 constitui-se em ferramenta para a avaliação do animal com diarreia, direcionando a
2332 terapia de suporte e auxiliando na identificação de outras patologias causadoras de
2333 diarreia nos equinos como doenças hepáticas e renais (Cowell e Tyler, 2007).

2334 O achado hematológico mais consistente de animais com salmonelose é a
2335 neutropenia, que indica um grave quadro de doença entérica (Cowell e Tyler, 2007). As
2336 alterações hematológicas refletem a resposta do hospedeiro a endotoxemia. Em casos
2337 severos, o leucograma normalmente demonstra desvio a esquerda degenerativo e
2338 alterações tóxicas em granulócitos (Spier, 1993; Cowell e Tyler, 2007; Oliver-Spinosa,
2339 2018).

2340 Neutropenia e linfopenia são observados em casos severos, e a neutrofilia de
2341 rebote pode ser observada em estágios tardios da infecção mesmo sem resposta
2342 inflamatória significativa (Smith, 1981; Cowell e Tyler, 2007).

2343 Parâmetros importantes a serem avaliados são a presença de hemoconcentração
2344 em animais desidratados, trombocitopenia e coagulopatias, sugestivos de resposta
2345 inflamatória sistêmica. As avaliações da concentração proteica e da relação
2346 albumina:globulina, devem ser realizadas (Palmer e Benson, 1984; Spier, 1993; Cowell
2347 e Tyler, 2007; Oliver-Spinosa, 2018). A concentração de proteínas plasmáticas aumenta
2348 inicialmente devido a hemoconcentração e, posteriormente, diminui como resultado das
2349 perdas entéricas pela lesão da mucosa intestinal ou extensa lesão endotelial. Valores

2350 extremamente baixos são encontrados em animais com quadros graves de diarreia
2351 devido a intensa perda proteica durante muitos dias. Hipoproteinemia, especialmente
2352 hipoalbuminemia, e desenvolvimento de edema podem ser visualizados e a presença em
2353 animais, mesmo após a transfusão de plasma, apresenta prognóstico reservado (Spier,
2354 1993; Oliver-Spinosa, 2018).

2355 Concentrações plasmáticas de fibrinogênio são variáveis desde baixas como 100
2356 mg/dL como resultado da coagulopatia até concentrações elevadas como 1000mg/dL
2357 associadas as respostas inflamatórias (Palmer e Benson, 1984; Spier, 1993; Oliver-
2358 Spinosa, 2018). Distúrbios da coagulação como trombocitopenia, baixa de antitrombina
2359 III, aumento no tempo de protrombina e do tempo de degradação de fibrina podem
2360 ocorrer em casos severos resultando em trombose pulmonar, membros e de cólon. Em
2361 casos severos a coagulação intravascular disseminada pode ocorrer (Palmer e Benson,
2362 1984; Spier, 1993; Oliver-Spinosa, 2018).

2363 A salmonelose é caracterizada como uma enteropatia com graves perdas
2364 proteicas e de eletrólitos como potássio, sódio, cloro e bicarbonato, levando a severos
2365 desequilíbrios ácidos-básicos. A acidose metabólica é frequente em cavalos com
2366 diarreia aguda, mas incomuns em casos de diarreias crônicas (Reed et al., 2010).

2367 Desequilíbrios eletrolíticos são comuns e devem ser avaliados, sendo mais
2368 severos em potros do que em animais adultos. As concentrações de eletrólitos variam de
2369 acordo com a duração da doença, presença de apetite e sede, função renal, fluidoterapia
2370 oral e intravenosa. Os animais podem apresentar hiponatremia (112 a 124mg/dl),
2371 hipocloremia (80 a 90mEq/L), hipocalemia (1 a 2,4mEq/L), hipocalcemia (8 a 10
2372 mEq/L), acidemia (bicarbonato 8-16 mEq/L) (Spier, 1993). Os níveis de uréia e
2373 creatinina estão frequentemente aumentados, indicando azotemia pré-renal e,
2374 ocasionalmente, renal pela necrose tubular ou nefrite (Palmer e Benson, 1984; Oliver-
2375 Spinosa, 2018).

2376 Animais adultos podem apresentar hiperglicemia devido ao aumento endógeno
2377 de cortisol, contudo em potros há pronunciada hipoglicemia causada pela redução dos
2378 estoques de glicogênio hepático. O fígado é um órgão severamente afetado pela grande
2379 quantidade de material tóxico presente na circulação e acentuadas elevações nas
2380 enzimas hepáticas podem ocorrer (Smith, 1981).

2381 A medição da concentração de imunoglobulinas, assim como a hemocultura e
2382 teste de sensibilidade ao antimicrobianos “in vitro” são recomendados em pacientes
2383 com menos de 30 dias de idade, que comumente apresentam bacteremia (Zimmel, 2008;

2384 Mallicote et al., 2012). Aproximadamente 50% das hemoculturas de potros com diarreia
2385 apresentam crescimento de pelo menos um agente infeccioso (Frederick et al., 2009;
2386 Mallicote et al., 2012). Culturas de fluidos articulares, fluidos cérebro-espinhais ou
2387 aspirados traqueais podem ser positivas para *Salmonella* spp. em potros infectados
2388 (Frederick et al., 2009; Mallicote et al., 2012).

2389

2390 **2.14 Alterações “post mortem”**

2391

2392 Potros podem apresentar quadros de poliartrite e infecções supurativas em
2393 tecidos (Zimmel, 2008; Mallicote et al., 2012). Quando há diarreia, enterite catarral
2394 envolvendo principalmente o íleo, severa reação inflamatória da mucosa do ceco e
2395 porção proximal do cólon maior podem ser visualizados, variando de uma superfície
2396 escurecida difusa da mucosa a lesões ulcerativas com superfície fibrinonecrótica da
2397 mucosa intestinal (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984).

2398 Há aumento da espessura da parede do ceco e cólon com edema e as superfícies
2399 serosas apresentam-se escurecidas e arroxeadas em algumas áreas. Os linfonodos
2400 mesentéricos encontram-se aumentados. Petéquias e equimoses nas superfícies das
2401 serosas do intestino, epicárdio e pleura podem estar presentes. Outros órgãos como rins
2402 podem sofrer lesões devido ao quadro endotoxêmico (Smith, 1981; Palmer e Benson,
2403 1984).

2404 As lesões macroscópicas “post mortem” dos dez animais com salmonelose
2405 clínica no sul do Brasil variaram em distribuição e gravidade, sendo a enterite
2406 fibrinonecrótica ou necrohemorrágica observadas em todos os animais, especialmente
2407 no intestino grosso (cólon maior e ceco). A principal característica microscópica foi a
2408 necrose da mucosa, frequentemente acompanhada de deposição de fibrina, seguida de
2409 necrose dos centros foliculares e alterações vasculares (Juffo et al., 2016).

2410 No Brasil, o relato de caso de um potro macho da raça Quarto de Milha de
2411 quatro meses de idade que foi encaminhado ao Hospital Veterinário em São Paulo
2412 apresentando diarreia amarelada com odor fétido durante três dias, com rápida evolução
2413 para prostração, decúbito e morte descreveu na necropsia congestão de vasos e aumento
2414 dos linfonodos mesentéricos, mucosas intestinais hemorrágicas, áreas isquêmicas
2415 difusas em intestino delgado e intestino grosso compatíveis com quadro de salmonelose
2416 hiperaguda (Hayashi et al., 2017).

2417

2418 **2.15 Exame clínico**

2419

2420 A anamnese deve ser realizada abrangendo a completa identificação do animal,
2421 idade, histórico, status vacinal e de vermifugação, informações sobre o número e idade
2422 dos animais afetados, consistência, aspecto e odor das fezes (Morse et al., 1976, Spier,
2423 1993; Martelli et al., 2018).

2424 Falha na transferência de imunidade deve ser investigada. A recomendação atual
2425 é que os potros apresentem concentrações séricas iguais ou superiores a 800 mg/dL de
2426 IgG para que a transferência seja considerada adequada (Paradis, 2006). O umbigo e o
2427 trato gastrointestinal são considerados importantes portas de entrada de microrganismos
2428 responsáveis por infecções em neonatos (Robinson, 2002).

2429 Os fatores de risco deve ser cuidadosamente analisados incluindo histórico
2430 gestacional e sanitário da égua, práticas de biossegurança deficientes da propriedade,
2431 uso extensivo de antimicrobianos, inclusão de animais sem quarentena na propriedade,
2432 intensa movimentação de animais, elevada taxa de lotação, histórico sanitário e de
2433 doenças anteriores na propriedade, mudanças de piquetes, mudanças alimentares,
2434 manejo dos dejetos, adubação do piquetes com fezes, histórico de internação,
2435 procedimentos cirúrgicos, transporte e desmame (McCain et al., 1990; Spier, 1993;
2436 Martelli et al., 2018).

2437 O exame clínico do animal com diarreia é importante para o estabelecimento da
2438 gravidade da doença e instituição da terapia adequada (Reed et al., 2010).

2439 A avaliação clínica do comprometimento sistêmico do animal afetado é crucial
2440 para o estabelecimento do tratamento, além de diferenciar os potros que podem ser
2441 manejados em condições de campo daqueles que necessitam de hospitalização (Oliver-
2442 Spinosa, 2018).

2443 Através do exame clínico, evidencia-se a condição corporal do animal, presença
2444 de febre, edema, desidratação e sinais de endotoxemia (Stewart et al., 1999). A
2445 avaliação cuidadosa do abdômen deve ser realizada para verificação da presença de
2446 distensão abdominal. Além disso, em potros a palpação abdominal e o balotamento são
2447 úteis para a identificação da presença de fluídos, gás e grandes massas. Outros exames
2448 que podem ser realizados é a auscultação para a avaliação do aumento do trânsito
2449 intestinal (Ragle et al., 1989).

2450 Em animais adultos, a palpação transretal é utilizada para a avaliação do
2451 tamanho dos segmentos intestinais, consistência do conteúdo, espessura da parede
2452 intestinal, identificação da presença de massas bem como o aumento dos linfonodos
2453 mesentéricos (Ragle et al., 1989).

2454 A desidratação e a azotemia pré-renal são frequentemente visualizadas nos casos
2455 de diarreias agudas (Stewart et al., 1999). A identificação de animais azotêmicos é
2456 importante para a instituição do tratamento, uma vez que nesses animais, a terapia com
2457 anti-inflamatórios não esteroidais é contraindicada (Palmer e Benson, 1984; Reed et al.,
2458 2010)

2459 O reconhecimento precoce dos sinais clínicos de diarreia, assim como o
2460 diagnóstico efetivo, são importantes não somente para a instituição da terapia como
2461 também para a implementação das medidas de controle, a fim de se evitar surtos e
2462 dependem do conhecimento dos patógenos mais comuns que afetam determinadas
2463 faixas etárias, além da disponibilidade, especificidade e sensibilidade dos métodos de
2464 diagnóstico e da correta interpretação dos resultados (Robinson, 2002; Dunkel e
2465 Wilkins, 2004; Oliver-Spinosa, 2018).

2466

2467 **2.16 Exames por Imagem**

2468

2469 Os exames por imagem são muito importantes em potros com quadro clínico de
2470 diarreia e devem ser considerados em qualquer potro diarreico com sinais de
2471 comprometimento sistêmico, especialmente se a cólica for observada (Mallicote et al.,
2472 2012). Uma probe linear com frequência de 3 a 7 mHz pode ser utilizada, com
2473 preferência para probe de 5-10mHz para avaliação do coto umbilical (Mallicote et al.,
2474 2012).

2475 O exame ultrassonográfico permite a identificação de fluido ou gás no lúmen
2476 intestinal, espessamento da parede do trato gastrintestinal, características do fluido
2477 peritoneal, presença de massas, distensão abdominal, intussuscepção, além da
2478 identificação de areia e outros conteúdos irritativos (Smith, 2008; Reed et al., 2010;
2479 Mallicote et al., 2012).

2480 O coto umbilical também deve ser avaliado para a presença de infecção (Smith,
2481 2008; Reed et al., 2010; Mallicote et al., 2012).

2482

2483 **2.17 Diagnóstico**

2484

2485 Sinais clínicos, alterações clínico-patológicas e lesões anatomopatológicas são
2486 achados não-específicos e que podem apresentar variação individual (Spier, 1993).

2487 Há muitos métodos disponíveis para a detecção de *Salmonella* spp. nas amostras
2488 clínicas, incluindo cultivo bacteriológico, reação em cadeia da polimerase (PCR) e
2489 imunoenensaio de fluxo lateral (LFIs). Todos os testes requerem variados níveis de
2490 experiência, custo e tempo para detecção. Os clínicos devem estar cientes dos diferentes
2491 métodos de diagnóstico disponíveis, suas vantagens e limitações (Burgess e Morley,
2492 2014).

2493 Amostras de fezes podem ser avaliadas microscopicamente para presença de
2494 leucócitos e células epiteliais. Geralmente, a celularidade aumenta com a gravidade da
2495 diarreia. Utiliza-se solução de azul de metileno de Loeffler, misturada em igual
2496 quantidade com as fezes; essa mistura deve ser colocada sobre lâmina, coberta por
2497 lamínula e examinada ao microscópio ótico com objetiva de 10x e 40x (Morris et al.,
2498 1983; Martelli et al., 2018). Animais com salmonelose apresentam aumento no número
2499 de células epiteliais e leucócitos fecais. Mais de 10 leucócitos por campo é indicativo de
2500 salmonelose (Morris et al., 1983; Martelli et al., 2018).

2501 O diagnóstico definitivo de salmonelose requer o isolamento da bactéria a partir
2502 de fezes, porém tecidos e sangue podem ser positivos em casos de septicemia,
2503 especialmente em potros jovens (Smith, 1981; Spier, 1993; Robinson, 2002; Magdesian,
2504 2005; Paradis, 2006; Zimmel, 2008; Slovis et al., 2014; Martelli et al., 2018). Animais
2505 que vem a óbito por salmonelose apresentam resultados positivos nos cultivos
2506 bacteriológicos de conteúdo intestinal e linfonodos mesentéricos (Spier, 1993).

2507 Pacientes imunossuprimidos ou cavalos com salmonelose hiperaguda podem ser
2508 bacterêmicos e numerosos tecidos poderão ser submetidos ao cultivo com resultado
2509 positivo. Amostras “post-mortem” a serem encaminhadas incluem fezes, linfonodos
2510 mesentéricos, fígado, baço, conteúdo intestinal e amostras do ceco e cólon ascendente
2511 (Smith, 1981; Spier, 1993). São utilizados para cultivo bacteriológico de amostras
2512 “post-mortem” procedimentos padrões de isolamento de *Salmonella* spp. através do
2513 plaqueamento direto em ágar Sangue ou MacConkey ou através do processo de pré-
2514 enriquecimento seletivo e posterior plaqueamento em meios específicos com
2515 identificação bioquímica (Begg et al., 1988).

2516 Amostras de fluidos articulares ou cérebro-espinhais podem ser plaqueados
2517 diretamente em ágar Sangue ou após o pré-enriquecimento em caldo infusão cérebro
2518 coração- BHI ou caldo triptona soja – TSB (Begg et al., 1988).

2519 As hemoculturas apresentam maior sucesso quando o meio TSB é utilizado e
2520 quando amostras seriadas com intervalo de horas são coletadas (Smith, 1981). Em
2521 humanos duas amostras (10mL a 20mL por amostra) de punções venosas distintas são
2522 coletadas antes da antibioticoterapia, com intervalo de cinco a 15 minutos entre as
2523 punções. As amostras de sangue devem ser incubadas a 35°C e avaliadas por sete dias e,
2524 paralelamente, deve ser realizada semeadura direta em meio seletivo (Morris et al.,
2525 1983; Martelli et al., 2018).

2526

2527 **2.18 Cultivo Bacteriológico das Fezes**

2528

2529 O cultivo bacteriológico das fezes é considerado o método “padrão-ouro” para o
2530 diagnóstico de salmonelose (Hyatt e Weese, 2004; Mainar-Jaime et al., 2008). Cultivos
2531 bacteriológicos apresentam excelente especificidade, contudo necessitam de 24 a 72
2532 horas para a interpretação dos resultados, podendo levar até mesmo cinco dias para a
2533 finalização dos testes adicionais bioquímicos para confirmação (Cohen et al., 1995;
2534 Stone et al., 1994; Kurowski et al., 2002; Gal-Mor, 2019). Este atraso pode impactar a
2535 implementação do tratamento, controle e prevenção (Cohen et al., 1995; Hyatt e Weese,
2536 2004).

2537 A técnica de cultivo usualmente apresenta baixa sensibilidade (Hyatt e Weese,
2538 2004; Mainar-Jaime et al., 2008). A sensibilidade é dependente de muitos fatores como
2539 tamanho/peso da amostra coletada, tipo de amostra (fezes, suabe retal e biópsia retal),
2540 método de coleta, heterogeneidade do organismo na amostra (necessidade de
2541 homogeneização da amostra antes do cultivo), método de cultivo, experiência do
2542 laboratório, presença de micro-organismos ou substâncias que possam inibir o
2543 isolamento de *Salmonella* spp., eliminação intermitente e em baixos números em
2544 animais portadores, perda de viabilidade do micro-organismo durante o transporte e
2545 armazenamento e sorovar infectante (Stone et al., 1994; Cohen et al., 1995; Cohen et
2546 al., 1996; Tillotson et al., 1997; Amavisit et al., 2001; Ward et al., 2005; Mainar-Jaime
2547 et al., 2008; Soria et al., 2012).

2548 O cultivo bacteriológico de amostras fecais apresenta sensibilidade de 55% ou
2549 menos na detecção de eliminação de *Salmonella* spp. e especificidade de 100% (Van
2550 Duijkeren et al., 1995; Hyatt e Weese, 2004; Ward et al., 2005).

2551 Assume-se que os resultados dos cultivos individuais sejam independentes e que
2552 há aumento da sensibilidade de detecção da bactéria quando são realizadas três (91%),
2553 quatro (96%), cinco (98%) cultivos com intervalos de 24 horas entre as coletas (Palmer
2554 et al., 1985; Cohen et al., 1996; Dunkel e Wilkins, 2004; Martelli et al., 2018).

2555 Em cavalos adultos o diagnóstico é baseado na realização de 3 a 5 cultivos
2556 seriados com intervalo de 24 horas (Smith et al., 1978; Palmer et al., 1985; Cohen et al.,
2557 1996; Dunkel e Wilkins, 2004; Ward et al., 2005; Martelli et al., 2018). Porém, o padrão
2558 de cultivo para o diagnóstico de salmonelose em potros não foi determinado (Hyatt e
2559 Weese, 2004; Dunkel e Wilkins, 2004).

2560 Estudo realizado em cavalos de corrida no estado americano de Louisiana
2561 identificou 77,6% de animais eliminadores de *Salmonella* spp. no primeiro cultivo
2562 bacteriológico de fezes (Chapman, 2006).

2563 Animais sofrendo de infecções agudas, que estejam com diarreia eliminam
2564 maiores números de micro-organismos nas fezes (10^5 ufc/g de fezes), sendo maior a
2565 probabilidade de cultivos positivos no primeiro ou segundo cultivos, quando
2566 comparados aos animais com infecção subclínica (menor que 10 ufc/g de fezes) que
2567 eliminam a bactéria de maneira intermitente ou que estejam com sinais clínicos mais
2568 brandos (Smith, 1981; Spier, 1993; Hyatt e Weese, 2004).

2569 Embora o número de micro-organismos presentes nas fezes dos cavalos com
2570 sintomatologia clínica seja maior, o aumento de volume das fezes no quadro diarreico,
2571 pode diminuir a possibilidade de cultivo positivo. Além disso, as bactérias não são
2572 consistentemente eliminadas durante o curso clínico da doença (Carter et al., 1986;
2573 Tillotson et al., 1997; Amavisit et al., 2001; Hyatt e Weese, 2004).

2574 O cultivo de amostras fecais de portadores ou de animais subclínicos podem ser
2575 negativos devido a diluição do micro-organismo. Por isso, múltiplos cultivos fecais são
2576 frequentemente necessários a fim de se aumentar a sensibilidade de detecção do agente
2577 (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Cohen et al., 1996).

2578 *Salmonella* spp. tende a se agrupar em uma amostra fecal ao invés de se
2579 distribuir homogeneamente, por isso há maior sensibilidade relativa do cultivo com o
2580 aumento do peso da amostra e por meio de uma mistura completa da amostra antes da
2581 semeá-la no meio de cultivo (Funk et al., 2000; Cannon e Nicholls, 2002; Hyatt e

2582 Weese, 2004). Aproximadamente o dobro de animais assintomáticos são detectados
2583 cultivando 50g de mucosa do ceco e cólon quando comparada a utilização de 3g de
2584 mucosa (Smith, 1981).

2585 As amostras fecais devem ser coletadas diretamente da ampola retal dos animais
2586 afetados (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984, Spier, 1993). O envio de 20 a 50 gramas
2587 de fezes é indicado, pois quantidades menores de material fecal diminuem as chances de
2588 isolamento. Os suabes retais apresentam menor sucesso no isolamento quando
2589 comparado ao envio de fezes frescas, provavelmente devido ao peso da amostra
2590 resultando em menor sensibilidade do teste (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984, Spier,
2591 1993; Funk et al., 2000).

2592 De forma geral, o cultivo de amostra de biópsia da mucosa retal pode ser
2593 realizado com maior sensibilidade do que o cultivo fecal, devido a característica
2594 intracelular do agente e, embora seja uma forma invasiva, pode ser utilizada em animais
2595 de difícil amostragem que possuam fezes escassas ou líquidas com mínimo material
2596 sólido (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Cohen et al., 1994; Cohen et al., 1996).

2597 Há muitos métodos diferentes que podem ser utilizados para o cultivo
2598 bacteriológico de *Salmonella* spp. que empregam uma grande variedade de caldos de
2599 enriquecimento seletivo e meios de cultura sólidos, bem como tempos de incubação e
2600 temperaturas (Davies et al., 2000; Rostagno et al., 2005; Voogt et al., 2002;). Essas
2601 diferentes escolhas metodológicas levam a diferenças na precisão do teste e tempo até
2602 que os resultados sejam relatados.

2603 Em geral, as amostras devem ser mantidas refrigeradas e processadas assim
2604 possível após a coleta. No entanto, a proporção de amostras com teste positivo no
2605 cultivo não diferiu significativamente quando processado no mesmo dia, após seis dias
2606 de refrigeração (4°C), ou após 14 dias de congelamento a -15°C (Davies et al., 2000;
2607 Rostagno et al., 2005; Voogt et al., 2002;). O atraso de até três dias para o
2608 processamento da amostra em virtude do transporte até o laboratório não apresenta
2609 impacto negativo no isolamento do agente (Smith, 1981; Hyatt e Weese, 2004).

2610 Cavalos com diarreia podem ser positivos no cultivo bacteriológico direto de
2611 fezes em ágar entérico, porém é preconizada uma etapa de pré enriquecimento em meios
2612 seletivos de *Salmonella* spp. como caldo selenito cistina, caldo tetrionato Kauffmann
2613 ou Caldo Rappaport Vassiliadis, que melhorarão a sensibilidade geral do teste,
2614 permitindo que *Salmonella* spp. se multiplique, enquanto inibem as bactérias
2615 competidoras (Spier, 1993; Burgess e Morley, 2014).

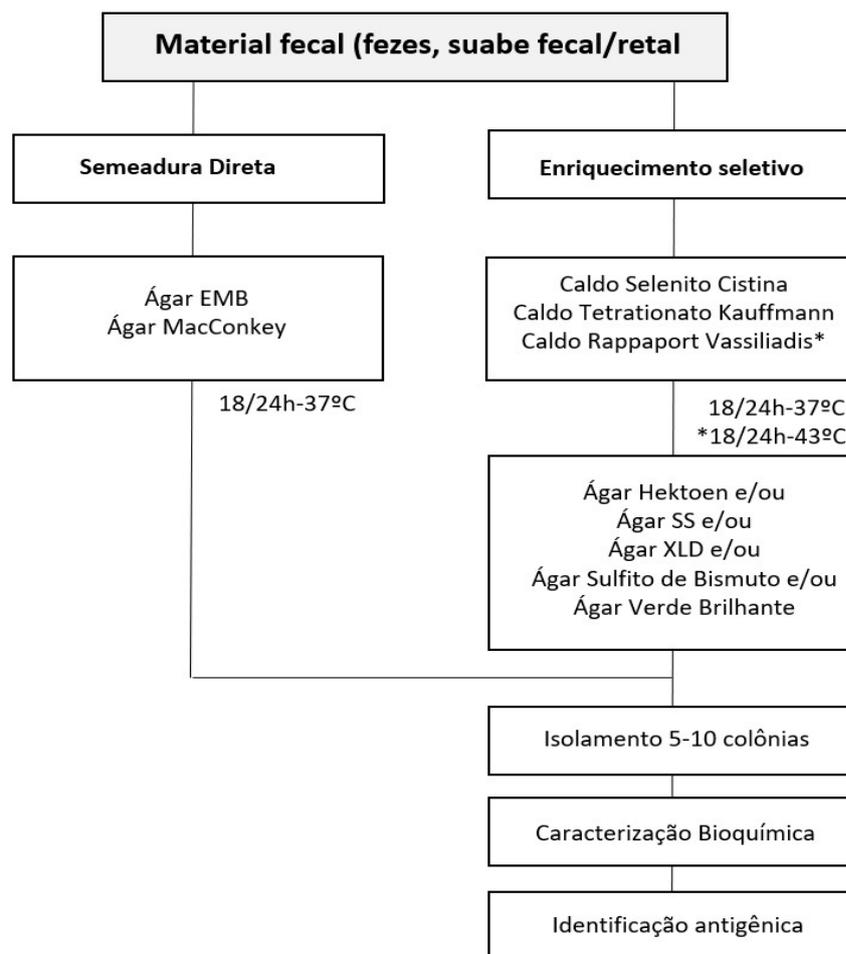
2616 O tipo de amostra e, especialmente, a microbiota presente na amostra, interferem
2617 na eficiência dos meios de cultura, pois o isolamento de outras bactérias prejudica a
2618 formação de colônias bem delimitadas de *Salmonella* spp. e a leitura das placas (Hyatt e
2619 Weese, 2004; Soria et al., 2012). Sendo assim, o período de incubação em meios de
2620 enriquecimento seletivos, diminui as chances de isolamento de outras bactérias lactose
2621 negativas (Palmer et al., 1985; Cohen et al., 1996; Dunkel e Wilkins, 2004).

2622 Estudo avaliou o tempo de incubação ideal para melhor isolamento de
2623 *Salmonella* spp. após a etapa de pré-enriquecimento seletivo. Os resultados
2624 demonstraram que os períodos de incubação maiores melhoram as taxas de isolamento
2625 de *Salmonella* spp. Houve aumento de 96% para 98% nas taxas de isolamento de
2626 *Salmonella* spp. quando se utilizou o plaqueamento após 24 horas de incubação em
2627 meio seletivo, seguido por enriquecimento secundário realizado após cinco dias
2628 (Waltman et al., 1993).

2629 Outro estudo realizando o enriquecimento seletivo em tetrionato a 35°C por
2630 seis dias não encontrou diferença na detecção de amostras positivas com um dia de
2631 incubação comparado ao sexto dia de incubação (Soria et al., 2012). Neste mesmo
2632 estudo houve a avaliação da acurácia do teste PCR para o gene *invA*, com dois meios de
2633 pré-enriquecimento seletivo (tetrionato e Rappaport-Vassialidis), água peptonada e
2634 cultivo bacteriológico, utilizando amostras de fezes de aves inoculadas artificialmente
2635 com *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Coeln*, *S. Orion*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*. A
2636 sensibilidade de detecção, tanto na PCR quanto no cultivo, variou dependendo do
2637 sorovar e do meio pré-enriquecimento seletivo utilizado na técnica de PCR e cultivo
2638 bacteriológico. Quanto a PCR, a acurácia e a sensibilidade foram menores com a água
2639 peptona quando comparada ao Rappaport-Vassialidis e tetrionato para a maioria dos
2640 sorovares estudados (Soria et al., 2012).

2641 Após período de 18-24 horas de incubação em meios de pré-enriquecimento
2642 seletivo, as amostras são então semeadas em ágar específicos como ágar MacConkey
2643 utilizado tradicionalmente para a diferenciação de *Salmonella* spp. de outros
2644 enteropatógenos como *Escherichia coli*. Contudo, outros enteropatógenos como *Proteus*
2645 spp. e *Shigella* spp. também não fermentam a lactose, sendo a inoculação adicional em
2646 meios diferenciais indicada, como ágar XLD, ágar Hektoen, ágar SS, ágar Sulfito
2647 Bismuto, e/ou ágar Verde Brillante (Spier, 1993; Gal-Mor, 2019) (Figura 4). O
2648 plaqueamento em dois meios de cultura reduz o número de resultados falso-negativos
2649 (Hyatt e Weese, 2004; Soria et al., 2012).

2650 Existem limitações na detecção da *Salmonella* spp. utilizando cultivo
 2651 bacteriológico de amostras fecais. Experimentalmente a sensibilidade analítica do
 2652 cultivo fecal é de 4ufc/g de fezes quando o meio de enriquecimento utilizado é o
 2653 tetrionato e de 100ufc/g de fezes utilizando caldo selenito (Cohen et al., 1994; Burgess
 2654 e Morley, 2014). Contudo na prática, devido a eliminação intermitente de poucos micro-
 2655 organismos por grama de fezes, assim como distribuição heterogênia dos micro-
 2656 organismos na amostra fecal, o cultivo bacteriológico caracteriza-se como um método
 2657 de baixa sensibilidade (Cannon e Nicholls, 2002; Burgess e Morley, 2014). Além disso,
 2658 outro fator importante é o elevado período necessário para obtenção do resultado em
 2659 uma única amostra (três a cinco dias), devido ao processo de pré-enriquecimento
 2660 seletivo, além da preconização da coleta de 3 a 5 amostras de fezes por animal para se
 2661 alcançar sensibilidade razoável do teste (Burgess e Morley, 2014).



2662 **FIGURA 4. Fluxograma de isolamento de *Salmonella* spp. em amostras fecais.**
 2663 Fonte: Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp. Ministério da Saúde,
 2664 2011.
 2665

2666 **2.19 Reação em Cadeia da Polimerase – PCR**

2667

2668 As técnicas de biologia molecular, são ferramentas utilizadas para o diagnóstico
2669 dos agentes patogênicos causadores de diarreia em equinos (Reed et al., 2010; Smith,
2670 2008).

2671 A PCR é geralmente considerada uma técnica de elevada sensibilidade e
2672 especificidade para a detecção de *Salmonella* spp., além de ser geralmente mais rápida
2673 que o cultivo bacteriológico proporcionando resultados em 1-2 dias em comparação aos
2674 2-5 dias para muitos métodos de cultivo com pré-enriquecimento seletivo (Gentry-
2675 Weeks et al., 2002; Sibley et al., 2003; Mainar-Jaime et al., 2008). Consequentemente, a
2676 PCR pode ser particularmente útil em amostras contendo baixos números de organismos
2677 e, em momentos em que é necessária a obtenção dos resultados rapidamente (por
2678 exemplo, durante epidemias).

2679 O desenvolvimento de técnicas de diagnóstico de infecções de *Salmonella* spp.
2680 mais rápidas e sensíveis a partir de amostras fecais e ambientais é necessário para a
2681 instituição de procedimentos de biossegurança efetivos, além de minimizar a ocorrência
2682 de surtos, especialmente, em locais com grande aglomeração de animais como em
2683 hospitais veterinários, centros de treinamento e reprodução de equinos (Gentry-Weeks
2684 et al., 2002; Sibley et al., 2003; Mainar-Jaime et al., 2008).

2685 A PCR é uma ferramenta útil na detecção de eliminadores de *Salmonella* spp.,
2686 especialmente em animais portadores sem sinais clínicos da doença (Amavisit et al.,
2687 2001; Cohen et al., 1994; Cohen et al., 1995) e possui vantagens em relação ao cultivo
2688 bacteriológico que incluem a elevada sensibilidade, especificidade, rapidez nos
2689 resultados e necessidade de menor quantidade de amostras (Cohen et al., 1996;
2690 Amavisit et al., 2001; Kurowski et al., 2002; Dunkel e Wilkins, 2004; Ward et al., 2005;
2691 Pusterla et al., 2010). A utilização de PCR em tempo real apresenta ainda a vantagem de
2692 poder quantificar a carga bacteriana nas fezes, aumentando a especificidade do teste
2693 (Pusterla et al., 2010).

2694 Recentemente, a aplicação das técnicas de PCR para a detecção de *Salmonella*
2695 spp. nas amostras fecais de cavalos admitidos em hospitais veterinários foram avaliados
2696 e demonstraram superior sensibilidade analítica da técnica comparada aos cultivos
2697 bacteriológicos convencionais (Amavisit et al., 2001; Kurowski et al., 2002; Ward et al.,
2698 2005; Pusterla et al., 2010). No entanto, a técnica pode ser tecnicamente desafiadora,
2699 pois pequenos erros nas concentrações podem resultar em desequilíbrios que alteram a

2700 reação. O magnésio é um componente crítico da reação, uma vez que se complexifica
2701 com os dNTPs para permitir seu reconhecimento pela DNA polimerase. O excesso de
2702 MgCl₂ pode afetar a fidelidade da DNA polimerase e aumentar a ligação do primer não
2703 específico, enquanto o sequestro de MgCl₂ por quelantes pode inibir a amplificação
2704 (Wilson, 1997). A quantidade de DNA polimerase também é crítica, pois o aumento das
2705 concentrações de enzimas pode levar a diminuição da especificidade e fidelidade do
2706 ensaio.

2707 Desde a sua introdução, a qPCR aumentou a acurácia da amplificação dos ácidos
2708 nucleicos comparado a técnica convencional de PCR. Através da utilização de sondas
2709 internas fluorogênicas (Chen et al., 2000), adicionalmente a sequência de primers
2710 padrões, esta técnica permite maior confiança na identificação do produto amplificado
2711 (Heid et al., 1996), trazendo como vantagens o fornecimento de medidas quantitativas e
2712 eliminando a necessidade de manuseio pós-PCR. Os métodos convencionais utilizados
2713 para a detecção dos produtos da PCR envolvem a visualização de um tamanho padrão
2714 de DNA em gel de agarose, contudo a PCR em tempo real depende da detecção da
2715 fluorescência, sendo mais direta, rápida e altamente sensível (Gentry-Weeks et al.,
2716 2002; Sibley et al., 2003; Mainar-Jaime et al., 2008).

2717 Um estudo utilizando a PCR em tempo real identificou sensibilidade de 2 ufc de
2718 *Salmonella* spp. por PCR quando se utilizou como alvo o gene *himA* de 122-bp (Chen et
2719 al., 2000). Porém, o diagnóstico por qPCR e PCR apresenta desafios especiais, pois as
2720 amostras biológicas como sangue, músculos e fezes contêm substâncias que interferem
2721 na técnica de PCR e qPCR, inibindo a DNA polimerase ou afetando o balanço dos
2722 ácidos nucleicos. Amostras fecais permanecem como sendo uma das amostras
2723 biológicas mais difíceis para a extração e amplificação de DNA, pois contém múltiplos
2724 componentes que podem inibir a reação de PCR e qPCR, incluindo bilirrubina, sais
2725 biliares, complexos polissacarídeos, produtos do metabolismo da hemoglobina, DNases
2726 e proteases (Heid et al., 1996; Chiu et al., 1996; Monteiro et al., 1997). A composição
2727 fecal desses inibidores pode variar dependendo da espécie, presença de doenças,
2728 componentes da dieta (glicogênio, gordura e cálcio) e contaminantes ambientais como
2729 componentes fenólicos e metais pesados (Fluit et al., 1995; Wilson et al., 1997).

2730 Os Kits comerciais de extração de DNA que removem as substâncias inibitórias
2731 estão disponíveis aumentando também a pureza do DNA isolado. Porém, o Kit de
2732 extração também influencia o resultado da PCR e qPCR. O princípio básico dos Kits
2733 envolve a lise de todo material celular através de um detergente, remoção dos inibidores

2734 com uma mistura de polissacarídeos, digestão de todas as proteínas exógenas, ligação a
2735 matrix sólida de DNA, seguido de lavagem e eluição. Estudo avaliou três Kits de
2736 extração de PCR (Dneasy tissue kit. Qiagen, Valencia Calif, PrepMan Ultrareagent-
2737 Applied Biosystems Foster City) e obteve resultados diferentes na sensibilidade e
2738 especificidade do teste dependendo do Kit utilizado (Kurowski et al., 2002).

2739 A fim de se evitar resultados falso-negativos e aumentar o nível de detecção,
2740 alguns protocolos de PCR e qPCR incluem um período de pré-enriquecimento de 24
2741 horas a fim de promover diluição das substâncias inibitórias. As informações
2742 disponíveis indicam que a PCR e a qPCR de amostras pré-enriquecidas tendem a
2743 apresentar melhor sensibilidade quando comparada ao cultivo bacteriológico (Sibley et
2744 al., 2003; Bohaychuk et al., 2007; Mainar-Jaime et al., 2008). Em estudos conduzidos a
2745 sensibilidade do método de PCR foi aumentada em 1.000 vezes com a adição de um
2746 período de enriquecimento em tetracionato (Cohen et al., 1995).

2747 Os métodos de PCR e qPCR que possuem como alvo genes específicos para
2748 regiões conservadas de *Salmonella* spp., são considerados métodos rápidos e confiáveis
2749 para a detecção de muitos sorovares, sem reação cruzada com outras bactérias comuns
2750 (Cohen et al., 1994; Stone et al., 1994; Kwang et al., 1996; Sibley et al., 2003; Pusterla
2751 et al., 2010). Primers atualmente utilizados para detecção de *Salmonella* spp. são
2752 desenhados para a identificação dos genes *invA* e *invE*, responsáveis pela produção de
2753 proteínas necessárias ao processo de invasão das células epiteliais. O uso desses genes
2754 apresenta maior potencial de identificação de *Salmonella* spp., sugerindo que estes
2755 genes estão presentes em número maior de sorovares (Rahn et al., 1992; Stone et al.,
2756 1994).

2757 A PCR e a qPCR demonstraram serem técnicas úteis em situações de triagem de
2758 um grande número de amostras onde a prevalência de *Salmonella* spp. é baixa,
2759 programas de monitoramento e, em animais com sintomatologia clínica (Wilkins et al.,
2760 2010; Ekiri et al., 2016). Porém, a associação da PCR a técnica de cultivo
2761 bacteriológico é necessária para a realização da sorotipificação e testes de resistência
2762 dos isolados aos antimicrobianos (Mainar-Jaime et al., 2008; Gal-Mor, 2019).

2763 A PCR e a qPCR podem detectar micro-organismos em baixo número, que
2764 podem não estar em quantidade suficiente para serem detectados no cultivo
2765 bacteriológico, podendo ocorrer resultados positivos na PCR e qPCR e negativos no
2766 cultivo (Dunkel e Wilkins, 2004). Amostras com baixa quantidade de gene alvo

2767 geralmente apresentam resultado de cultivo bacteriológico negativo (Pusterla et al.,
2768 2010).

2769 A reação em cadeia da polimerase foi relatada como tendo sensibilidade
2770 analítica de 100 ufc/g de fezes para PCR com pré- enriquecimento seletivo ou 1000
2771 ufc/g de fezes durante o teste de amostras não enriquecidas (Amavisit et al., 2001;
2772 Dunkel e Wilkins, 2004). O limite da técnica de qPCR foi de três organismos quando o
2773 DNA foi extraído de amostras enriquecidas em selenito e de dez organismos quando o
2774 DNA foi extraído direto das fezes (Pusterla et al., 2010).

2775 Embora a PCR possa ser útil para a detecção precoce da eliminação das bactérias
2776 nas fezes e contaminação ambiental em comparação ao cultivo, não detecta
2777 necessariamente organismos viáveis, podendo também detectar DNA degradado.
2778 Portanto, em uma PCR positiva os resultados podem não ser necessariamente
2779 indicativos de risco de infecção relacionado a contaminação ambiental (Sibley et al.,
2780 2003; Mainar-Jaime et al., 2008).

2781 Uma advertência ao uso da PCR como um método de detecção para amostras
2782 ambientais é que os desinfetantes têm como alvo diferentes partes dos micro-
2783 organismos. Por exemplo, a amônia quaternária e compostos fenólicos têm como alvo
2784 as membranas citoplasmáticas que deixam o DNA intacto, enquanto o hipoclorito e o
2785 formaldeído degradam o DNA, o que poderia teoricamente levar a diferenças nas taxas
2786 de detecção da PCR (Sibley et al., 2003; Mainar-Jaime et al., 2008).

2787 Suabes ambientais pós procedimento de desinfecção em estudo realizado na
2788 Universidade de Michigan foram cultivados e submetidos a PCR para detecção de
2789 *Salmonella* spp. Houve diferença significativa na detecção de *Salmonella* spp. por PCR
2790 (14%) e cultivo (0,13%), porém maior resultado da PCR foi confirmado pela presença
2791 de DNA de bactérias não viáveis (Ewart et al., 2001).

2792 Estudo avaliou amostras ambientais das quais 2,5% foram positivas na PCR para
2793 o gene operon transporte de histidina e nenhuma foi positiva no cultivo (Cohen et al.,
2794 1996). Estudo em hospital veterinário identificou 68% das amostras positivas na PCR e
2795 26% de amostras positivas no cultivo (Alinovi, et al., 2003).

2796 Em amostras ambientais a discrepância dos valores encontrados entre os
2797 resultados obtidos pelo cultivo bacteriológico e PCR, podem ser justificados pelo fato
2798 da PCR poder detectar *Salmonella* spp. não viáveis. A PCR de amostras ambientais
2799 pode ser utilizada para a identificação de locais que albergam maior concentração de

2800 micro-organismos, locais onde o monitoramento deverá ser intensificado (Cohen et
2801 al.,1996; Ewart et al., 2001).

2802 A aplicação direta da PCR e qPCR em amostras clínicas não é indicada devido
2803 ao baixo número de bactérias nas fezes em animais subclínicos, infecções transitórias,
2804 ou presença de inibidores extraídos em conjunto com as amostras de DNA, podendo
2805 resultar em não amplificação de produtos ou em pobre sensibilidade do teste (Sibley et
2806 al., 2003; Arnold et al., 2004).

2807 A fim de minimizar o problema da presença de inibidores da PCR e resultados
2808 falso-negativos, a inclusão de uma etapa de pré-enriquecimento seletivo é indicada para
2809 diluição das substâncias inibitórias e aumento do número de *Salmonella* spp. nas
2810 amostras pela exclusão de micro-organismos competitivos. O processo de extração de
2811 DNA também pode diminuir a quantidade de substâncias inibitórias. Sendo assim, a
2812 combinação dos dois métodos pode aumentar sensibilidade do teste na detecção de
2813 *Salmonella* spp. (Stone et al., 1994; Amavisit, 2001; Carli et al., 2001; Schrank et al.,
2814 2001; Arnold et al., 2004; Dunkel e Wilkins, 2004).

2815 A acurácia da PCR é frequentemente estimada pela comparação a técnica de
2816 cultivo microbiológico através de infecção experimental de animais com *Salmonella*
2817 spp. ou pela inoculação artificial de amostras clínicas (Mainar-Jaime et al., 2008).

2818 Estudos com a técnica de PCR mostram diferenças de sensibilidade e
2819 especificidade na detecção de *Salmonella* spp. com os resultados dependendo do tipo de
2820 amostra utilizado, população amostrada, emprego ou não de meio de pré-
2821 enriquecimento seletivo, meio de enriquecimento seletivo utilizado, kit de extração
2822 utilizado e primer selecionado. Porém, de maneira geral, há superior sensibilidade das
2823 técnicas de PCR e qPCR comparativamente ao cultivo microbiológico, mas com
2824 especificidade variada (Tabela 2 e Tabela 3).

2825 Além disso, os estudos indicam a possibilidade de existência de resultados falso-
2826 negativo e falso-positivos em relação ao cultivo bacteriológico (Rahn et al., 1992;
2827 Cohen et al., 1994; Stone et al., 1994; Cohen et al., 1995; Kwang et al., 1996; Amavisit
2828 et al., 2001; Gentry-Weeks et al.,2002; Kurowski et al., 2002; Sibley et al., 2003;
2829 Oliveira et al., 2003; Arnald et al., 2004; Ward et al., 2005; Mainar-Jaime et al., 2008;
2830 Wilkins et al., 2010; Soria et al., 2012; Pusterla et al., 2010; Pusterla et al., 2014; Ekiri
2831 et al., 2016).

2832 Para o gene *invA* através de análises de bioinformática foi identificado apenas
2833 um microorganismo com a mesma sequência de alinhamento *Photobacterium*

2834 *profundum* (bactéria gram-negativa encontrada em ambientes marinhos), sendo este
2835 considerado primer específico para *Salmonella* spp. Já para o gene operon transporte de
2836 histidina foram encontrados sequência de alinhamento com *Escherichia coli*,
2837 *Enterobacter* spp., *Shigella* spp. e *Pseudomonas* spp. fato que pode impactar em maior
2838 número de resultados considerados falso- positivos (Ekiri et al., 2016).

2839 As informações disponíveis indicam que a PCR e a qPCR de amostras pré-
2840 enriquecidas tendem a apresentar melhor sensibilidade quando comparadas ao cultivo
2841 bacteriológico (Sibley et al., 2003; Bohaychuk et al., 2007; Mainar-Jaime et al., 2008).
2842 A necessidade do pré-enriquecimento limita a utilização da PCR como um teste rápido
2843 para detecção de *Salmonella* spp. nas fezes, embora os resultados possam estar
2844 disponíveis entre 24 a 48h mais cedo quando somente o cultivo é realizado (Sibley et
2845 al., 2003; Bohaychuk et al., 2007; Mainar-Jaime et al., 2008).

2846 A técnica de PCR do caldo de enriquecimento seletivo apresentou 85,4% de
2847 sensibilidade e 98,1% de especificidade em comparação a 53,7% de sensibilidade e
2848 100% de especificidade do cultivo bacteriológico (Lin et al., 2011; Gal-Mor, 2019).

2849 Stone et al., (1994) encontraram que os caldos tetrionato e o Rappaport
2850 Vassiliadis foram inibidores para a técnica de PCR. Carli et al (2001) testou tetrionato
2851 e BHI com culturas puras de *Salmonella* spp. e não houve inibição da PCR. Schrank et
2852 al. (2001) comparou tetrionato com selenito-cistina e concluiu que a combinação com
2853 tetrionato foi mais sensível e que ambos os caldos de enriquecimento seletivo foram
2854 mais sensíveis que os métodos microbiológicos.

2855 Estudo avaliou a efetividade da PCR combinada com meio de enriquecimento
2856 seletivo (tetrionato, Rappaport Vassiliadis, selenito) em comparação ao cultivo
2857 bacteriológico na detecção de suínos eliminadores de *Salmonella* spp. nas fezes. O
2858 cultivo bacteriológico identificou 58% de animais positivos e a PCR combinada ao
2859 meio de enriquecimento seletivo (tetrionato, Rappaport Vassiliadis, selenito) 64,2%
2860 de animais positivos. Nenhum cultivo positivo foi negativo na PCR. Nenhuma das
2861 amostras foi positiva quando a extração ocorreu diretamente das fezes e o tempo ideal
2862 de cinco dias foi necessário para a detecção de *Salmonella* spp. na PCR combinada ao
2863 meio de enriquecimento (Sibley et al., 2003).

2864 A acurácia e sensibilidade dos testes foram maiores nas reações de PCR
2865 combinadas ao Rappaport Vassialidis e tetrionato, quando comparado a água
2866 peptonada. A extensão do período de incubação das amostras fecais de aves não alterou
2867 as taxas de isolamento (Soria et al., 2012).

2868 A precocidade de detecção de animais eliminadores, especialmente em hospitais,
2869 centros de treinamento e reprodução é importante para a rápida implementação de
2870 medidas de controle a fim de reduzir o risco de surtos. A vantagem da PCR e qPCR é a
2871 obtenção dos resultados em menos de 48h se as amostras são pré-enriquecidas,
2872 comparado ao cultivo bacteriológico que pode levar de 3 a 5 dias (Ekiri et al., 2016). A
2873 precocidade de resultados positivos para a PCR na primeira amostra analisada quando
2874 comparada ao cultivo foi demonstrada no estudo de Cohen et al., (1996), no qual de
2875 onze animais positivos no cultivo, dez animais (90,9%) foram identificados positivos na
2876 PCR após a primeira amostra ser submetida e sete animais (63,6%) foram identificados
2877 pelo cultivo na primeira amostra. Todos os cavalos que foram positivos no cultivo
2878 foram positivos na PCR. Porém, para a detecção no cultivo de todos os animais
2879 positivos alguns animais necessitaram do envio de cinco amostras. A PCR foi relatada
2880 como sendo uma técnica mais rápida, sensível e que necessita do n de poucas amostras
2881 para o resultado quando comparado ao cultivo para detecção de *Salmonella* spp.
2882 (Cohen et al., 1996).

2883 Gentry-Weekes et al. (2002) também demonstraram a precocidade de resultados
2884 positivos para a PCR na primeira amostra analisada quando comparada ao cultivo.
2885 Neste estudo um animal foi positivo na PCR para os dois primers utilizados, mas
2886 negativo no cultivo. Após 5 dias, o animal foi positivo tanto no cultivo bacteriológico
2887 quanto na PCR, demonstrando que a PCR pode detectar *Salmonella* spp. presente em
2888 níveis que não são detectados no cultivo bacteriológico.

2889 A proporção de cavalos positivos no cultivo aumentou a partir do 5º, 6º e 7º dia
2890 de amostragem para cultivo enquanto que para a PCR passou de 24% no primeiro dia
2891 de coleta para 42% de positivos na 8º amostragem (Ward et al., 2005).

2892 Porém, em estudo realizado em animais hospitalizados com sinais clínicos de
2893 doença gastrointestinal utilizando qPCR para *invA* não houve diferença significativa
2894 quanto a precocidade de identificação de animais positivos na PCR (7/20) no primeiro
2895 dia em comparação ao cultivo bacteriológico (4/20) (Ekiri et al., 2016).

2896 Na Índia, estudo realizado em equinos criados a campo identificou 6,5%
2897 positivos para *Salmonella* spp. através da técnica de cultivo bacteriológico e 10,8% de
2898 amostras foram positivas pela técnica de PCR para o gene *HisJ* (Singh et al., 2007)

2899 Ekiri et al., (2016) avaliaram a efetividade do diagnóstico de *Salmonella* spp.
2900 em amostras fecais seriadas de animais hospitalizados com e sem sinais clínicas de
2901 doença gastrointestinal pela técnica de qPCR para o gene *invA*. Os resultados

2902 demonstraram que a técnica de qPCR pode ser utilizada em animais com ou sem sinais
 2903 clínicas de doença gastrointestinal, havendo baixo número de resultados falso-negativos,
 2904 podendo assim, ser utilizada como ferramenta de triagem em animais com sinais
 2905 clínicos de doença gastrointestinal. Adicionalmente, os animais com resultados positivos
 2906 na qPCR devem ter cultivos seriados de fezes realizadas a fim de reduzir os resultados
 2907 falso-positivos, além da obtenção de dados adicionais como perfil de sensibilidade aos
 2908 antimicrobianos “in vitro” e sorotipificação (Ekiri et al., 2016).

2909

2910 **TABELA 2. Especificidade e Sensibilidade das diferentes técnicas de PCR e qPCR**
 2911 **empregadas no diagnóstico de *Salmonella* spp.**

2912

Autores	Ano	Amostras	Caldo enriquecimento seletivo	Técnica	Especificidade	Sensibilidade
Rahn et al	1992	100 sorovares	não informado	PCR <i>invA</i>	100%	99,40%
Stone et al	1994	32 sorovares	BHI, selenito, tetrionato, Rappaport-Vassiliadis	PCR <i>invA</i> e <i>invE</i>	100%	100%
Cohen et al	1995	Fezes de equinos inoculados com <i>S. Enteritidis</i>	tetrionato	PCR Operon Transporte de Histidina		10 ⁰ ufc/g de fezes
Gentry-Weekes et al	2002	774 amostras de fezes de bovinos e equinos	BHI	PCR <i>invE</i> , <i>invA</i> e <i>HisJ</i>	<i>InvE</i> , <i>invA</i> : 98,6% <i>HisJ</i> : 85,6%	<i>InvE</i> , <i>invA</i> : 80% <i>HisJ</i> : 93,3%
Kurowski et al	2002	299 amostras de fezes bovinos, equinos e cães	tetrionato	qPCR <i>sipC</i> , <i>invE</i> , <i>spaQ</i>	98,10%	100%
Arnold et al	2004	Tecidos de suínos	Rappaport-Vassialidis	PCR <i>invA</i>	96%	100%
Ward et al	2005	873 amostras de fezes equinos hospitalizados	tetrionato	PCR Operon Transporte de Histidina	39,10%	100%
Mainar-Jaime et al	2008	203 amostras de ceco de suínos	selenito, tetrionato, Rappaport-Vassialidis	PCR <i>invA</i>	88%	91%
Pusterla et al	2010	Fezes de 911 cavalos hospitalizados	selenito	qPCR <i>invA</i>	98%	100%
Wilkins et al	2010	293 amostras fezes de suínos	tetrionato e Rappaport-Vassialidis	qPCR <i>invA</i>	99%	90%
Ekiri et al	2016	Fezes de 93 cavalos hospitalizados	tetrionato	qPCR <i>invA</i>	93,20%	100%

2913
2914
2915
2916

TABELA 3. Estudos realizados em amostras clínicas comparando a prevalência de *Salmonella* spp. através das técnicas de biologia molecular (PCR e q-PCR) e cultivo bacteriológico

Autores	Ano	Amostras	População	Técnica	Prevalência
Palmer et al	1985	100	Equinos hospitalizados com cólica	Cultivo bacteriológico	13%
Begg et al	1988	250: hospitalizados 75: haras	Equinos hospitalizados e Éguas em fazendas	Cultivo bacteriológico	2,8% (hospital) e 0% (fazenda)
McCain et al	1990	70	Equinos frigorífico	Cultivo bacteriológico	7%
Traub-Dargatz et al	1990	246	Equinos hospitalizados > 3 dias	Cultivo bacteriológico	7%
Cohen et al	1996	152	Equinos Hospitalizados	Cultivo bacteriológico e PCR	0% (cultivo) 26% (PCR)
Cohen et al	1997	110	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico e PCR gene <i>HisI</i>	10% (cultivo) 64% (PCR)
Bucknell et al	1997	142	Equinos frigorífico	Cultivo bacteriológico	27%
Ravary et al	1998	613	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico	1,70%
Mainar-Jaime et al	1998	1446	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico	6,30%
House et al	1999	1429	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico	5,46%
Amavisit et al	2001	96	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico e PCR gene <i>ompC</i>	2% (cultivo) 40% (PCR)
Kim et al	2001	246	Equinos hospitalizados com cólica	Cultivo bacteriológico	9%
Ewart et al	2001	638	Equinos hospitalizados com cólica	Cultivo bacteriológico	5,50%
Alinovi et al	2003	34	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico e PCR gene <i>HisI</i>	26% (cultivo) 68% (PCR)
Alinovi et al	2003	232	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico	0,5 (admissão) e 4,3% (hospitalização)
Ernst et al	2004	465	Equinos hospitalizados com cólica	Cultivo bacteriológico	13%
Ward et al	2005	116	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico e PCR gene <i>HisI</i>	4,1 (cultivo), 33% (PCR)
Morley et al	2005	3695	Equinos hospitalizados	Cultivo bacteriológico	2,40%
Singh et al	2007	646	Equinos a campo saudáveis	Cultivo bacteriológico e PCR gene <i>HisI</i>	6,5% (cultivo) 10,8% (PCR)
Pusterla et al	2010	911	Equinos hospitalizados	qPCR gene <i>invA</i>	2,4% (qPCR c/ selenito) e 0,3% qPCR (direto fezes)

2917 **2.20 Tratamento**

2918

2919 O manejo dos potros com diarreia depende da gravidade dos sinais clínicos.
2920 Potros com diarreia branda muitas vezes apresentam resolução espontânea ou
2921 necessitam de mínima intervenção medicamentosa. Porém, potros que estejam febris,
2922 depressivos e que apresentem profusa diarreia aquosa ou sanguinolenta devem ser
2923 examinados e tratados rapidamente. Testes diagnósticos corretos, manejo e terapia
2924 medicamentosa são críticos na prevenção da disseminação de micro-organismos
2925 infecciosos e limitam a gravidade da doença nos animais afetados (Robinson, 2002;
2926 Dunkel e Wilkins, 2004; Oliver-Spinosa, 2018).

2927 Em casos de enterocolite, particularmente aqueles que falham em responder a
2928 terapia inicial e permanecem do dor, laparotomia exploratória é indicada (Smith, 2008;
2929 Reed et al., 2010; Mallicote et al., 2012).

2930 O tratamento da salmonelose baseia-se na terapia de suporte (fluidoterapia,
2931 nutrição) e tratamento específico da infecção (Robinson, 2002; Dunkel e Wilkins, 2004;
2932 Mallicote et al., 2012; Oliver-Spinosa, 2018).

2933 Analgésicos são indicados no caso de animais que apresentam sinais de dor
2934 abdominal. Caso a dor seja persistente e severa, ultrassonografia e raio-x são indicados
2935 e, caso necessário, uma laparotomia exploratória é realizada. Entre os analgésicos
2936 utilizados estão o butorfanol (0,05-0,1mg/Kg, i.v), opioides e α -2 agonistas (xilazina
2937 0,5-1mg/Kg, i.v) que podem ser utilizados em conjunto no manejo da dor no paciente.
2938 Flunixinina meglumina (1mg/Kg, i.v a cada 12 horas) pode ser utilizada pelas suas
2939 propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antitóxicas, porém devido ao seu
2940 potencial de redução de perfusão gastrintestinal não é indicado em neonatos (Palmer e
2941 Benson, 1984; Magdesian, 2005). É importante evitar a utilização de anti-inflamatórios
2942 não esteroidais nos casos de animais com azotemia ou desidratação intensa antes da
2943 fluidoterapia (Smith, 2008; Reed et al., 2010; Mallicote et al., 2012).

2944 A fluidoterapia é essencial nos casos de potros com diarreia podendo ser
2945 administrada pela via oral e intravenosa (Palmer e Benson, 1984; Smith, 2008; Reed et
2946 al., 2010; Mallicote et al., 2012). A fluidoterapia intravenosa é preferida para qualquer
2947 potro que apresente hipovolemia, fraco e que não esteja mamando adequadamente
2948 (Mallicote et al., 2012). A necessidade de terapia contínua ou em bólus depende da
2949 disponibilidade de recursos associada a gravidade da doença. Se um animal está
2950 mamando adequadamente, não está severamente desidratado e sem evidência de

2951 refluxo, a fluidoterapia oral com suplementação eletrolítica pode ser utilizada,
2952 especialmente em animais mais velhos (Palmer e Benson, 1984; Magdesian, 2005;
2953 Smith, 2008; Reed et al., 2010; Mallicote et al., 2012).

2954 Em neonatos a fluidoterapia enteral dificilmente é utilizada. O volume a ser
2955 administrado depende do grau de hipovolemia. No choque hipovolêmico a combinação
2956 de colóides e cristalóides é recomendada, especialmente em neonatos, pois há perda
2957 proteica via trato gastrintestinal (Smith, 1981; Robinson, 2002; Magdesian, 2005;
2958 Paradis, 2006; Zimmel, 2008; Slovis et al., 2014). As recomendações para o volume de
2959 reposição são baseadas nas estimativas de hipovolemia e desidratação. Como regra
2960 geral, taxa de 10-20mL/Kg, i.v é administrada em bólus durante 30 minutos, podendo
2961 ser repetida dependendo da resposta a terapia através da avaliação da hipovolemia,
2962 produção de urina e pressão do sistema nervoso central (Magdesian, 2005; Mallicote et
2963 al., 2012).

2964 Opções de colóides incluem o plasma e colóides sintéticos. Plasma hiperimune
2965 não somente fornece proteínas plasmáticas para a manutenção da pressão oncótica, mas
2966 também imunoglobulinas importantes em neonatos e potros em estado grave. Potros
2967 com falha de transferência de imunidade passiva (IgG < 8g/L) devem receber no
2968 mínimo 1L de plasma. Para potros que apresentam perda proteica de origem
2969 gastrintestinal, a administração do plasma pode ser feita em bólus de 3 a 5 mL/Kg,
2970 devendo ser administrados lentamente para minimizar os riscos de reações
2971 anafilactóides. Podendo ser administrado na taxa de 10mL/Kg/h para um volume total
2972 de 1 a 2L ou alternativamente em infusão constante de 1 a 2ml/Kg/h para a reposição de
2973 coloide e albumina (Magdesian, 2005; Mallicote et al., 2012).

2974 Testes seriados de concentração de IgG são úteis para a avaliação da necessidade
2975 de plasma adicional devido as perdas por consumo devido aos processos primários
2976 (Smith, 1981; Robinson, 2002; Magdesian, 2005; Paradis, 2006; Zimmel, 2008;
2977 Mallicote et al., 2012; Slovis et al., 2014).

2978 Uma vez que a hipovolemia tenha sido corrigida, após a terapia inicial de
2979 ressuscitação, a fluidoterapia de manutenção pode ser administrada (100ml/kg/dia para
2980 neonatos e 50ml/Kg/dia para potros acima de 30 dias de idade), normalmente com
2981 soluções de manutenção hipotônicas. Para os potros capazes de manterem os seus
2982 requerimentos energéticos através da amamentação, a administração de bólus de fluidos
2983 cristalóides (1-2L, i.v a cada 4 horas) pode ser utilizada para a reposição das perdas
2984 (Smith, 1981; Robinson, 2002; Magdesian, 2005; Paradis, 2006; Zimmel, 2008; Slovis

2985 et al., 2014). O clínico deve fazer a avaliação frequente do status eletrolítico e ácido-
2986 básico do animal. O objetivo da fluidoterapia é a manutenção do pH sanguíneo acima de
2987 7,2 e de sódio acima de 130mmol/L (Smith, 1981; Robinson, 2002; Magdesian, 2005;
2988 Paradis, 2006; Zimmel, 2008; Slovis et al., 2014).

2989 A antibioticoterapia de amplo espectro é indicada em potros com conhecida
2990 infecção por *Salmonella* spp. (especialmente em animais abaixo de 90 dias) e o
2991 tratamento deve ser estendido após o desaparecimento dos sinais clínicos entéricos para
2992 a prevenção de infecção em sítios secundários (Magdesian 2002; Hollis et al., 2008;
2993 Frederick et al., 2009; Mallicote et al., 2012).

2994 A antibioticoterapia não altera o curso clínico da diarreia ou a eliminação do
2995 micro-organismo nas fezes, mas deve ser instituída nos potros para a prevenção da
2996 bacteremia (Spier, 1993; Slovis, 2019).

2997 O esquema preconizado é a associação de amicacina (22-25mg/kg, i.v., a cada
2998 24 horas) ou gentamicina (6,6mg/Kg, i.v.; a cada 24 horas em potros > 2 semanas; 12
2999 mg/kg, i.v. a cada 24horas em potros < 2 semanas) com penicilina potássica (22.000-
3000 44.000 UI/Kg, i.v., a cada 6 horas) ou ampicilina (25mg/Kg, i.v. a cada 6 horas) (Hollis
3001 et al., 2008; Mallicote et al., 2012). Ceftiofur (5mg/Kg, i.v a cada 12horas) ou
3002 cefquinoma (1mg/Kg, i.v. a cada 24 horas) podem ser utilizados em monoterapias
3003 (Spier, 1993; Magdesian, 2005; Mallicote et al., 2012; Slovis et al., 2014). Polimixina
3004 B (6.000 UI/Kg, IV, TID) diluído em 1L de fluido, Flunixinina meglumina (0.25mg/kg
3005 TID IV) e pentoxifilina (7.5mg/kg VO, BID) são efetivos na redução dos efeitos da
3006 endotoxemia (Slovis, 2019).

3007 O carvão ativado e Di-Tri-Octaedro Esmectita (30mL, v.o. a cada 12horas)
3008 podem ser administrados como adsorventes. É importante a administração de
3009 medicamentos orais separadamente (Magdesian 2002; Hollis et al., 2008; Frederick et
3010 al., 2009; Mallicote et al., 2012). Probióticos, embora sejam comumente utilizados, não
3011 apresentam evidências científicas de eficácia (Magdesian, 2005; Mallicote et al., 2012).

3012 O tratamento preventivo de úlceras gástricas com omeprazol (1-4mg/Kg, v.o. a
3013 cada 24 horas), ranitidina (1,3-1,5 mg/Kg, i.v. a cada 8-12 horas ou 6,6mg/Kg, v.o. a
3014 cada 8 horas) ou sucralfato (10-20mg/kg, v.o. a cada 6-8 horas) pode ser utilizado
3015 (Magdesin, 2005; Mallicote et al., 2012).

3016 Potros com leve a moderada diarreia e sem evidências de cólicas podem
3017 continuar mamando. Todo potro com cólica, distensão abdominal deve ter restrição a
3018 ingestão de leite temporariamente (12-24horas). Nesses casos, os requerimentos

3019 energéticos devem ser supridos via parenteral através da adição de dextrose (4-
3020 8mg/Kg/min, com monitoramento frequente da concentração de glicose sanguínea) a
3021 solução cristalóide de manutenção, nas primeiras 12 a 24 horas (Magdesian, 2005;
3022 Mallicote et al., 2012).

3023 Para pacientes em cuidados intensivos e que não toleram a nutrição enteral, a
3024 nutrição parenteral total é indicada através da adição de aminoácidos, lipídeos, dextrose,
3025 vitaminas e minerais (Magdesin, 2005; Mallicote et al., 2012). O monitoramento da
3026 glicemia é importante em pacientes que estejam recebendo alimentação parenteral e, em
3027 potros que não estejam mamando adequadamente (Magdesin, 2005; Mallicote et al.,
3028 2012). Para tolerantes, pequenos volumes administrados frequentemente são benéficos
3029 para a manutenção da nutrição dos enterócitos. O volume inicial de administração deve
3030 ser de 10% do peso vivo corporal dividido a cada uma ou duas horas de intervalo
3031 através da sonda nasogástrica. Potros que estejam alertas e fortes o suficiente para
3032 mamar podem ser permitidos a fazê-lo (Magdesin, 2005; Mallicote et al., 2012).

3033

3034 **2.21 Perfil de resistência aos antimicrobianos de isolados de *Salmonella* spp. em** 3035 **equinos**

3036

3037 Embora o desenvolvimento de resistência não seja um fenômeno novo, os
3038 desafios a saúde aumentaram consideravelmente nas últimas décadas devido a falta de
3039 desenvolvimento de antimicrobianos de nova geração que possam ser utilizados quando
3040 outros antimicrobianos perdem eficácia. A resistência antimicrobiana se tornou um dos
3041 maiores desafios da saúde pública. Como problema de Saúde Única, a resistência
3042 antimicrobiana afeta a saúde animal, humana e ambiente. (Quinn et al., 2011; Hurley et
3043 al., 2014; McSorley, 2014).

3044 Todos os usos de antimicrobianos exercem pressão seletiva que promove o
3045 surgimento de bactérias resistentes. Portanto, é fundamental que os profissionais de
3046 saúde com a tarefa de prescrever antimicrobianos estejam cientes do problema,
3047 conhecedores das formas de mitigar a resistência e estejam alertas para os casos em que
3048 existe o risco de falha no tratamento devido a bactérias resistentes (Quinn et al., 2011;
3049 Hurley et al., 2014; McSorley, 2014).

3050 Em 2019, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados
3051 Unidos divulgou seu relatório atualizado “Ameaças de resistência a antimicrobianos nos
3052 Estados Unidos, 2019”. Este relatório destacou a importância da resistência

3053 antimicrobiana na medicina humana e discutiu a importância subjacente da Saúde Única
3054 no combate ao problema, destacando bactérias específicas, como *Salmonella* spp. que
3055 mostram evidências de aumento de resistência tanto nos animais como nos seres
3056 humanos (CDC, 2019).

3057 Estima-se que nos Estados Unidos 1,35 milhões de infecções em seres humanos
3058 sejam causadas por *Salmonella* spp. não tifóide através da ingestão de alimentos
3059 contaminados. Sendo 16% dos isolados resistentes a pelo menos um antimicrobiano
3060 essencial e 2% dos isolados resistentes a mais de três antimicrobianos essenciais (CDC,
3061 2019).

3062 A emergência de isolados de *Salmonella* spp. multirresistentes em equinos
3063 representa uma ameaça potencial à saúde pública (Cummings et al., 2016). Sendo
3064 especialmente importante as bactérias resistentes as cefalosporinas, pois a Organização
3065 Mundial de Saúde considera os antimicrobianos da 3^a e 4^a geração de cefalosporinas
3066 criticamente importantes para a medicina humana.

3067 Embora a salmonelose possa ser autolimitante, crianças abaixo de cinco anos,
3068 idosos e pessoas imunossuprimidas podem ser susceptíveis a severa salmonelose, sendo
3069 os fármacos de eleição em adultos a ciprofloxacina e, em crianças a ceftriaxona
3070 (Cummings et al., 2016). Isolados resistentes ao ceftiofur, frequentemente, apresentam
3071 resistência a ceftriaxona (Cummings et al., 2016). O aumento da resistência aos
3072 antimicrobianos como fluorquinolonas, cefalosporinas de terceira geração,
3073 carbapenêmicos são relatados. Sendo assim, o constante monitoramento das infecções
3074 por *Salmonella* spp. em seres humanos e animais é importante (Sanchez, 1998; Freitas-
3075 Neto et al., 2010).

3076 A presença de uma ampla gama de hospedeiros e possibilidade de interações
3077 intergenéricas e interespecíficas faz com a bactéria *Salmonella* spp. presente elevada
3078 importância como reservatório e veículo de genes de resistência aos antimicrobianos
3079 (Dargatz et al., 2004; Singh et al., 2009). Além disso, a disseminação de *Salmonella*
3080 spp. multirresistente é especialmente importante em equinos devido a possibilidade de
3081 transporte dos animais por longas distâncias (Cummings et al., 2016).

3082 A prevalência de isolados de *Salmonella* spp. em equinos resistentes aos
3083 antimicrobianos utilizados em seres humanos, assim como a ocorrência de sorovares
3084 frequentemente causadores de salmonelose em seres humanos (*S. Paratyphi*) nos
3085 equinos, indica a possibilidade de circulação ambiental e transmissão de cepas
3086 multirresistentes entre seres humanos e equinos. A presença de resistência aos

3087 antimicrobianos normalmente não utilizados em equinos sugere que a bactéria
3088 mantenha um pool de genes em seus cromossomos, mesmo na ausência de pressão de
3089 seleção, ou que frequentemente haja infecções entre as espécies com a consequente
3090 aquisição de isolados resistentes (Singh et al., 2009).

3091 A transmissão de *Salmonella* spp. multirresistente a outras espécies que
3092 convivem com os equinos como bovinos, pode promover a contaminação de seres
3093 humanos pelo consumo de carne, leite ou outros produtos de origem animal e vegetal.
3094 Os humanos também podem se contaminar pelo consumo de carne de equinos ou pelo
3095 contato direto com animal infectado (Sanchez, 1998; Freitas-Neto et al., 2010).

3096 Caso de transmissão via consumo de carne de equino já foi relatado na França
3097 causado por *S. Newport* (Espíe e Weill, 2004).

3098 Durante surto de salmonelose por *S. Typhimurium* em hospital veterinário em
3099 Minnessota nos Estados Unidos, dois estudantes contactantes aos equinos com diarreia
3100 também apresentaram diarreia. Os isolados, tanto dos seres humanos quando dos
3101 animais, apresentaram o mesmo padrão de susceptibilidade antimicrobiana e o mesmo
3102 padrão na eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), além de ocorrer persistência
3103 ambiental por dez meses (Bender et al., 2001; Bender e Tsukayama, 2004).

3104 Em uma fazenda, isolado de *Salmonella* spp. de equino com salmonelose,
3105 também foi identificado no solo, frutas e vegetais que foram adubadas com as fezes do
3106 animal contaminado (Jay-Russel et al., 2014).

3107 Os principais antimicrobianos utilizados mundialmente na prevenção e
3108 tratamento dos sinais clínicos nos animais de grande porte podem ser visualizados na
3109 Tabela 4.

3110 Nos Estados Unidos, 6,3% dos potros com menos de seis meses de idade
3111 apresentaram diarreia e destes 4,6% dos potros receberam antibioticoterapia durante os
3112 primeiros 12 meses de vida devido a diarreia. Neste mesmo estudo, 6,4% dos potros
3113 com até 30 dias de idade morreram por problemas digestivos como diarreia (USDA,
3114 2006). Outro estudo realizado nos Estados Unidos conduzido em propriedades com
3115 mais de cinco equinos em 28 estados, identificou que 7% dos potros foram tratados com
3116 antimicrobiano de maneira profilática e que a diarreia e outros problemas digestivos
3117 foram responsáveis pelo tratamento com antimicrobianos em 4,6% dos potros, seguido
3118 pelos problemas respiratórios com 4,1% dos animais tratados (USDA, 2006).

3119

3120 **TABELA 4. Principais antimicrobianos utilizados para o tratamento de animais segundo**
 3121 **pesquisas realizadas pelo USDA, ESVAC e OIE.**

EUA- USDA/2019	%	Europa- ESVAC/2019	%	OIE/2018	%
Tetraciclina	64,6	Tetraciclina	30,4	Tetraciclina	34,5
Penicilinas	12,6	Penicilinas	26,9	Penicilinas	15,2
Macrolídeos	8,5	Sulfonamidas	9,2	Polipeptídeos	10
Sulfonamidas	5	Macrolídeos	7,4	Macrolídeos	9,8
Aminoglicosídeos	4,7	Lincosamidas	7,3	Sulfonamidas	6
Lincosamidas	2,8	Aminoglicosídeos	4,6	Anfenicóis	3,2
Anfenicóis	0,9	Polimixinas	3,4	Aminoglicosídeos	3,2
Cefalosporinas	0,5	Pleuromutilinas	3,3	Fluorquinolonas	2,3
Fluorquinolonas	0,4	Fluorquinolonas	2,2	Pleuromutilinas	1,9

3122

3123 Em equinos, os isolados de cavalos clinicamente com diarreia tendem a ser mais
 3124 resistentes aos antimicrobianos (Dargatz et al., 2004).

3125 Resultado de estudo em isolados de *Salmonella* spp. obtidos de cavalos com
 3126 diarreia nos Estados Unidos, identificou elevada sensibilidade a amicacina, imipenem,
 3127 apramicina, ciprofloxacina. Elevada resistência foi encontrada a tetraciclina,
 3128 sulfametoxazol + trimetoprima, ampicilina, estreptomicina, cloranfenicol, canamicina e
 3129 cefalosporinas (Dargatz et al., 2004).

3130 Donahue et al., (1986) identificaram que 95,2% dos isolados de *S. Agona*
 3131 provenientes de animais com diarreia, foram resistentes a eritromicina (100%),
 3132 penicilina (100%), ampicilina (96,3%), carbenicilina (96,3%), canamicina (96,3%),
 3133 sulfas (96,3%), cloranfenicol (95,2%), gentamicina (95,2%), demonstrando que os
 3134 animais com diarreia albergaram sorovares mais resistentes aos antimicrobianos.

3135 As formas multirresistentes normalmente não ocorrem na população geral de
 3136 equinos. Em estudo amplo realizado nos Estados Unidos menos de 5% dos isolados de
 3137 *Salmonella* spp. da população geral de equinos foram resistentes aos antimicrobianos
 3138 testados (Traub-Dargatz et al., 2000).

3139 Isolados de *Salmonella* spp. multirresistentes em equinos são frequentemente
 3140 reportadas especialmente entre os sorovares comumente associados as doenças clínicas
 3141 nos animais como *S. Anatum*, *S. Typhimurium*, *S. Newport*, *S. Agona* (Donahue et al.,
 3142 1986; Schott et al., 2001; Ward et al., 2005; Dallap Schaer et al., 2010).

3143 Uma infecção por *Salmonella* spp. multirresistente em equinos apresenta maior
 3144 probabilidade de resultar em hospitalização e morte do animal do que uma infecção por
 3145 um isolado pansusceptível (Cummings et al., 2016).

3146 *Salmonella* spp. multirresistente é mais comum em animais hospitalizados do
3147 que na população geral de equinos, sendo a antibioticoterapia frequentemente implicada
3148 na seleção e colonização desses animais com cepas multirresistentes (Schott et al.,
3149 2001; Ward et al., 2005; Dallap Schaer et al., 2010; Cummings et al., 2016; Martelli et
3150 al., 2018).

3151 Surtos de salmonelose são descritos em muitos hospitais veterinários ao redor do
3152 mundo, podendo alcançar taxas de mortalidade de até 38% e fontes de infecção comum
3153 são relatadas (Hird et al., 1984; Ikeda e Hirsh, 1985; Castor et al., 1989; Hartmann et
3154 al., 1996; Tillotson et al., 1997; Schott et al., 2001). A frequência dos surtos de
3155 salmonelose nos hospitais veterinários aumentaram nos últimos anos (Cohen et al.,
3156 1994; McMillan, N.S., 2004; Hartmann et al., 1995; Dunowska et al., 2007; Amavisit et
3157 al., 2001; Cummings et al., 2014). Acredita-se que uma das principais causas para o
3158 aumento dos surtos de salmonelose sejam as cepas de *Salmonella* spp. multirresistentes
3159 (Cummings et al., 2014).

3160 Surtos em Hospitais Veterinários associados aos sorovares *S. Infantis*, *S.*
3161 *Anatum*, *S. Heidelberg*, *S. Agona*, *S. Kreifeld*, *S. Saintpaul*, *S. Give*, *S. Newport* e *S.*
3162 *Typhimurium* multirresistentes foram descritos (Ikeda e Hirsh 1985; Donahue, J.M.
3163 1986; Castor et al., 1989; Hartmann et al., 1995; Tillotson et al., 1997; Amavisit et al.,
3164 2001; Schott et al., 2001; Ward et al., 2005; Dunowska et al., 2007; Dallap Schaer et
3165 al., 2010).

3166 Um dos sorovares multirresistentes de maior preocupação é o sorovar *S.*
3167 *Newport*, devido ao aumento nos relatos de infecções em seres humanos e, em animais
3168 nos Estados Unidos (USDA, 2003). O sorovar com perfil fenotípico de resistência mais
3169 preocupante é o que inclui resistência a ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina,
3170 sulfonamida, tetraciclina e cefalosporinas (USDA, 2003).

3171 Leon et al., (2018) identificaram que o sorovar mais resistente, determinado pelo
3172 número de classes, foi *S. Anatum*, seguido por *S. Rubislaw* e *S. Braenderup*. Já
3173 Cummings et al., (2016) reportaram os sorovares *S. Newport*, *S. Oranienburg* e *S.*
3174 *Typhimurium* como os mais resistentes. Multirresistência foi encontrada em 71,4% do
3175 isolados de *S. Newport*, 32,4% de *S. Typhimurium* e, em 100% dos isolados do sorovar
3176 *S. Oranienburg* em equinos (Cummings et al., 2016). Estudo no hospital da Florida
3177 relatou que os sorovares mais resistentes em equinos foram *S. Java*, *S. Typhimurium* var
3178 *Copenhagen*, *S. Javiana* e *S. Newport* (Vetro Widenhouse, 2004). Na Holanda, o
3179 sorovar mais resistente em equinos foi o *S. Typhimurium* (Duijkeren et al., 2002).

3180 Sorovar *S. Saintpaul* foi responsável por surto em Hospital Veterinário na
3181 Califórnia sendo os isolados resistentes a penicilina, estreptomicina, neomicina,
3182 canamicina, gentamicina, cloranfenicol, sulfas e ampicilina (Ikeda e Hirsh, 1985).

3183 Estudo realizado durante surto de salmonelose em 13 animais no Hospital
3184 Veterinário da Universidade da Georgia nos Estados Unidos identificou que os
3185 sorovares *S. Give*, *S. Newport* e *S. Agona* foram isolados do ambiente e *S. Give*, *S.*
3186 *Newport* e *S. Anatum* dos animais com sintomatologia clínica. O perfil de resistência
3187 mais comum incluiu resistência a ampicilina, canamicina, cloranfenicol, estreptomicina,
3188 gentamicina, sulfametoxazol e tetraciclina (Castor et al., 1989).

3189 Sorovar *S. Anatum* isolado do surto de Hospital Veterinário em Wisconsin foi
3190 resistente a ampicilina, tetraciclina, cloranfenicol, carbenicilina, ticarcilina, cefalotin,
3191 gentamicina, tobramicina, sulfametoxazol + trimetoprima (Hartmann et al., 1995).

3192 Nos Estados Unidos a investigação de surto em Hospital Veterinário em
3193 Michigan, identificou 44% de mortalidade, sendo o sorovar *S. Typhimurium* com perfil
3194 de resistência a ampicilina, gentamicina, canamicina, tetraciclina e sulfametoxazol +
3195 trimetoprima e susceptível ao ceftiofur e amicacina responsável pela infecção dos
3196 animais. (Schott et al., 2001).

3197 Surto em Hospital Veterinário na Universidade da Pensilvânia em equinos foi
3198 causado por *S. Newport* multirresistente positivo para o gene *bla_{CMY2}*. Todos os isolados
3199 foram resistentes a ampicilina, cloranfenicol, tetraciclina, cefalotina, ceftiofur,
3200 amoxicilina com ácido clavulânico, gentamicina e sulfametoxazol + trimetoprima e
3201 foram susceptíveis a amicacina, imipenem e enrofloxacina (Dallap Schaer et al., 2010).

3202 Investigação do surto de salmonelose em equinos no hospital veterinário no
3203 Texas identificou *S. Typhimurium* resistente a amoxicilina, ampicilina, cefazolin,
3204 cefoxitin, ceftiofur, cefalotin, cloranfenicol, gentamicina, rifampicina, tetraciclina,
3205 ticarcilina, sulfametoxazol + trimetoprima, sendo todos os isolados positivos para o
3206 gene *bla_{CMY2}* (Ward et al., 2005).

3207 *S. Infantis* responsável pelos surtos nosocomiais no Hospital Veterinário do
3208 Colorado, apresentou resistência a estreptomicina (80,3%), sulfisoxazol (80,3%),
3209 ampicilina (78,6%), tetraciclina (73,2%) cefalotina (66,1%), ceftiofur (64,3%) e
3210 amoxicilina com ácido clavulânico (64,3%) (Dunowska et al., 2007).

3211 Perfil de resistência antimicrobiana foi realizada em isolados de *Salmonella* spp.
3212 de equinos na região de Nova York na Universidade de Cornell. Dos isolados de
3213 *Salmonella* spp., 40,9% foram pansusceptíveis e 57% multirresistentes. Os isolados

3214 apresentaram elevada resistência ao cloranfenicol (59,3%), cefazolin (55,7%),
3215 ampicilina (55,7%), amoxicilina e ácido clavulânico (54,6%), tetraciclina (54,1%),
3216 cefoxitin (51,8%), ceftiofur (46,1%) (Cummings et al., 2016).

3217 Estudo realizado em isolados de *Salmonella* spp. do Hospital Veterinário do
3218 Texas evidenciou que 85,9% dos isolados foram pansusceptíveis e que 10,2% foram
3219 multirresistentes, apresentando elevada resistência aos antimicrobianos sulfametoxazol,
3220 ampicilina e tetraciclina (Leon et al., 2018).

3221 *S. Heidelberg* multirresistente a ampicilina, estreptomicina, tetraciclina,
3222 cloranfenicol, sulfametoxazol + trimetoprima, canamicina, espectinomicina e
3223 gentamicina foi isolado do ambiente hospitalar e dos animais durante um período de
3224 seis anos em Hospital Veterinário na Austrália (Amavisit et al. 2001).

3225 Na Holanda, houve a identificação de 32% de isolados de *Salmonella* spp.
3226 pansusceptíveis e 13% de isolados multirresistentes. Sendo os isolados resistentes a
3227 tetraciclina (56%), ampicilina (34%), sulfametoxazol + trimetoprima (21%) e
3228 canamicina (12%) (Duijkeren et al., 2002).

3229 No Reino Unido, estudo revelou que entre 55% (2013) a 77% (2017) dos
3230 isolados foram pansusceptíveis aos antimicrobianos testados. O padrão de resistência
3231 mais comum encontrado entre os isolados foi tetraciclina, ampicilina, estreptomicina e
3232 sulfonamina (Martelli et al., 2019).

3233 No Paquistão, elevada resistência foi observada ao sulfametoxazol +
3234 trimetoprima (86%), seguido de doxiciclina (78%), oxitetraciclina (74%),
3235 estreptomicina (40%) em isolados de *Salmonella* spp. obtidos de amostras de fezes de
3236 potros com diarreia (Haq et al., 2018).

3237 Na Índia, 97% dos isolados de *Salmonella* de equinos sem diarreia criados a
3238 campo eram multirresistentes. Os isolados foram resistentes aos antimicrobianos
3239 sulfametoxazol + trimetoprima (90,8%), tetraciclina (70,8%), doxiciclina (67,7%),
3240 furazolidona (66,2%), colistina (55,4%) (Singh et al., 2007). Posteriormente no mesmo
3241 país, isolados de *Salmonella* spp. obtidos de equinos sem diarreia, fetos abortados e de
3242 um potro com diarreia apresentaram 75,7% de resistência. Os isolados foram resistentes
3243 a sulfametoxazol + trimetoprima (82%) e tetraciclina (43%) (Singh et al., 2009).

3244 No Hospital Veterinário de equinos no Chile houve a identificação de 45,45%
3245 dos isolados de *S. Typhimurium* multirresistentes, apresentando resistência aos
3246 antimicrobianos como amoxicilina com ácido clavulânico, ampicilina, ciprofloxacina,

3247 cloranfenicol, estreptomicina, gentamicina, sulfametoxazol + trimetoprima e tetraciclina
3248 (Soza-Ossandón et al., 2020).

3249 No Brasil, em Minas Gerais, 12,8% de equinos apresentaram lesões compatíveis
3250 a salmonelose. Os isolados foram resistentes a cefalotina, tetraciclina, sulfametoxazol +
3251 trimetoprima, enrofloxacina, ciprofloxacina, clindamicina, penicilina e sensibilidade a
3252 norfloxacina e cefotaxima (Ferreira, 2019).

3253 Relato de caso no Brasil de potro de 10 dias com histórico de fraqueza
3254 generalizada e morte revelou durante a necropsia presença de onfaloflebite purulenta
3255 necrotizante e meningoencefalite fibrinopurulenta. Sendo o sorovar *S. Typhimurium*
3256 resistente a ampicilina, cefalotina, e parcialmente resistente a enrofloxacina, isolado no
3257 sistema nervoso central (Oliveira et al., 2019).

3258

3259 **2.22 Ocorrência de Sorovares de *Salmonella* spp. em equinos**

3260

3261 Nos Estados Unidos, os principais sorovares isolados de equinos com
3262 sintomatologia clínica de salmonelose entre os anos de 2000 a 2004 foram *S.*
3263 *Typhimurium* (29%), *S. Newport* (15%), *S. Agona* (14%) e *S. Anatum* (6%). Entre os
3264 anos de 2005 a 2009 foram *S. Typhimurium* (25%), *S. Newport* (11%), *S. Javiana* (9%)
3265 e *S. Anatum* (6%) (Cummings et al., 2016). Em 2013 os sorovares *S. Typhimurium*, *S.*
3266 *Anatum*, *S. Newport* e *S. Agona* foram isolados de mais de 50% das amostras obtidas a
3267 partir de equinos com sinais clínicos de salmonelose de acordo com o National
3268 Veterinary Services Laboratories (Cummings et al., 2016).

3269 Os sorovares mais frequentemente isolados em estudo realizado na Índia foram
3270 *S. Abortusequi*, *S. Weltevreden*, *S. Dumfries*, *S. Tshiongwe*, *S. I.4,5,12:r,i:1,5*, *S.*
3271 *Bovismorbificans*, *S. Drogana*, *S. Lagos*, *S. Kottbus*, *S. Richmond*, *S. Typhimurium*, *S.*
3272 *Newport*, *S. Paratyphi B* var *Java*, *S. Saintpaul* (Sing et al., 2009).

3273 O único estudo nacional que avaliou a verdadeira prevalência da eliminação
3274 fecal na população equina de animais saudáveis a campo nos Estados Unidos baseado
3275 na coleta de uma amostra por animal identificou 0,8% de prevalência de animais
3276 eliminadores e 16 sorovares, sendo mais frequentes os sorovares *S. Muenchen*, *S.*
3277 *Newport*, *S. Schwartzengrund* e *S. Typhimurium* (Traub-Dargatz et al., 2000).

3278 Estudo em animais de abatedouros nos Estados Unidos identificou 15 sorovares
3279 diferentes, não houve isolamento de *S. Typhimurium*. Os sorovares mais prevalentes

3280 foram *S. Albani*, *S. Anatum*, *S. Braenderup*, *S. Havana*, *S. Montevideo*, *S. Agona*, *S.*
3281 *Cerro*, *S. Derby*, *S. Munchen*, *S. Oranienburg* (McCain e Powell, 1990; Spier, 1993).

3282 Na Holanda, estudo realizado em isolados de *Salmonella* spp. de equinos entre
3283 os anos de 1993 a 2000, identificou *S. Typhimurium* em 71% dos isolados, seguido de
3284 8% de isolamento de *S. Enteritidis* (Duijkeren et al., 2002).

3285 No Reino Unido, estudo de prevalência de sorovares em equinos entre os anos
3286 de 2008 a 2017 revelou que o *S. Typhimurium* foi o mais prevalente em todos os anos
3287 do estudo, com exceção do ano de 2013 durante o qual o *S. 4,12:i:-* foi o mais
3288 prevalente. *S. Newport* foi isolado durante todos os anos sendo o segundo sorovar mais
3289 reportado durante os anos de 2008, 2009, 2010, 2015 e 2016. *S. Enteritidis* também foi
3290 relatado durante todos os anos, assim como *S. Agama* e *S. Oslo* (Martelli et al., 2019).
3291 No ano de 2019, os sorovares mais relatados foram *S. Typhimurium* (27%), *S. Oslo*
3292 (18.3%) e *S. Bovismorbificans* (15.1%). E, no ano de 2018, os sorovares mais
3293 reportados foram *S. Typhimurium* e *S. Bovismorbificans* (ambos com 33.3%), seguido
3294 por *S. Anatum* e *S. Newport*, ambos com 9,5% de isolamento (APHA, 2020).

3295 No Canadá, o sorovar mais prevalente em casos clínicos em animais
3296 hospitalizados foi o *S. Typhimurium* (Ravary et al., 1998). Na Austrália, estudo
3297 realizado em animais hospitalizados revelou que os sorovares mais prevalentes foram *S.*
3298 *Anatum*, *S. Typhimurium* e *S. Tennessee* (Roberts e O'Boyle, 1981; Begg et al., 1988).

3299 No Chile, estudo em Hospital Veterinário revelou 87% de isolados pertencentes
3300 ao sorovar *S. Typhimurium* e 28,7% ao sorovar *S. Infantis* (Soza-Ossandón et al., 2020).

3301 Em Trinidad e Tobago, os sorovares mais encontrados em potros com e sem
3302 diarreia foram *Salmonella* *Anatum*, *Salmonella* *Javiana*, *Salmonella* *Aberdeen* nos
3303 potros com diarreia e *Salmonella* *Anatum*, *Salmonella* *Uganda* e *Salmonella* *Javiana* nos
3304 potros sem diarreia. (Harris et al, 2012).

3305 No Paquistão, sete sorovares foram identificados em potros com diarreia: *S.*
3306 *Paratyphi*, *S. Typhimurium*, *S. Saintpaul*, *S. Newport*, *S. enterica* subsp. *Salamae*, *S.*
3307 *Kottbus* *S. Lagos* (Haq et al., 2018).

3308 Na Índia, 13 sorovares foram identificados em equídeos sem diarreia criados a
3309 campo: *S. paratyphi* B var *Java*, *S. I. 4,5,12,27:r, i:1,5*, *S. Drogana*, *S. Newport*, *S.*
3310 *Typhimurium*, *S. Saintpaul* (Singh et al., 2007).

3311 Na África do Sul, os três principais sorovares encontrados em equinos foram *S.*
3312 *Heidelberg*, *S. Anatum* e *S. Typhimurium* (Gelaw et al., 2018).

3313 No Brasil, os sorovares mais frequentemente isolados de potros com diarreia
3314 foram: *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Panama*, *S. Saintpaul*, *S. enterica* subsp.
3315 *enterica*, *S. Muechen*. Dos potros sem diarreia os sorovares isolados foram: *S.*
3316 *Saintpaul*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Newport* (Olivo et al., 2016).

3317 Outro estudo realizado no Brasil avaliou nove equinos que apresentaram
3318 sintomatologia clínica de enterite de até dez meses de idade. Os sorovares identificados
3319 foram: *S. Newport*, *S. Glostrup*, *S. Typhimurium*, *S. enterica* subsp *enterica* 4,5,12i e *S.*
3320 *Saintpaul* (Ribeiro et al., 2010).

3321 No Nordeste do Brasil os sorovares identificados em carne de equinos foram: *S.*
3322 *Anatum*, *S. Carrau*, *S. SaintPaul*, *S. Agona*, *S. Typhimurium* (Hofer et al., 2000). No Rio
3323 Grande do Sul os sorovares *S. Anatum*, *S. Typhimurium* e *S. Muenster* foram
3324 identificados em equinos necropsiados (Juffo et al., 2016).

3325

3326 **2.23 Fundamentos do controle da Infecção**

3327

3328 O controle da infecção é alcançado por meio da implementação de medidas de
3329 prevenção da introdução e propagação de patógenos contagiosos dentro de uma
3330 instalação ou população com o objetivo de eliminar fontes de microrganismos
3331 potencialmente patogênicos e interromper a transmissão de doenças infecciosas (Smith,
3332 1981; Spier, 1993; Burgess e Morley, 2014; Oliver-Espinosa O., 2018).

3333 Dentre as medidas importantes a serem implementadas para diminuir o risco de
3334 transmissão da salmonelose destaca-se a identificação dos eliminadores subclínicos e
3335 das fontes de infecção, isolamento dos animais com diarreia, manejo dos contactantes,
3336 práticas de biossegurança, controle da movimentação das pessoas e animais, limpeza e
3337 desinfecção do ambiente e equipamentos, sorotipificação e perfil de sensibilidade aos
3338 antimicrobianos dos isolados (Smith, 1981; Spier, 1993; Burgess e Morley, 2014;
3339 Oliver-Espinosa O., 2018).

3340 O reconhecimento precoce da doença e o isolamento dos animais que
3341 apresentem sinais clínicos como anorexia, depressão, febre, que normalmente precedem
3342 a diarreia são importantes para a prevenção da disseminação da salmonelose (Burgess e
3343 Morley, 2014; Oliver-Espinosa O., 2018; Slovis, 2019). Porém, o manejo pode ser
3344 desafiador, em parte devido a diversidade clínica da infecção, variando de animais
3345 assintomáticos, diarreia aguda com febre e neutropenia a quadros de septicemia e morte.
3346 Adicionalmente, cavalos em recuperação da infecção podem eliminar os micro-

3347 organismos por longos períodos (Burgess e Morley, 2014; Oliver-Espinosa O., 2018;
3348 Slovis, 2019).

3349 As medidas de controle devem ser implementadas em todos os animais da
3350 propriedade e não somente nos animais suspeitos. As práticas de biossegurança nas
3351 propriedades como a instituição de quarentena são importantes para redução do risco de
3352 morbidade e mortalidade devido as doenças infecciosas. É recomendado que todos os
3353 novos animais da propriedade, assim como os que retornam de eventos, viagens,
3354 exposições sejam isolados por um período de no mínimo 2 a 3 semanas (Smith,1981;
3355 Losinger et al., 2002, Wohfender et al., 2009; Slovis, 2019). O contato com outros
3356 animais pode resultar na introdução ou disseminação do agente causando a
3357 sintomatologia clínica (Smith, 1981; Walker et al., 1995; Wohfender et al., 2009).

3358 Os animais de reprodução, assim como os potros, devem ser alocados em áreas
3359 consideradas limpas não devendo entrar em contato com animais que se encontram em
3360 constante movimentação, como os que participam de provas, exposições, ou que
3361 estejam com sintomatologia clínica (Burgess e Morley, 2014; Oliver-Espinosa O., 2018;
3362 Slovis, 2019). A diminuição do tráfico de animais e boas práticas de higiene são
3363 importantes fatores na diminuição da probabilidade de surtos de *Salmonella* spp. em
3364 potros (Palmer e Benson, 1984; Burgess e Morley, 2014; Oliver-Espinosa O., 2018;
3365 Slovis, 2019).

3366 A probabilidade de infecção é inversamente proporcional a qualidade de manejo
3367 da propriedade. Sendo assim, o manejo sanitário, calendários vacinal e de vermifugação
3368 devem ser implementados e seguidos (Wohfender et al., 2009; Mallicote et al., 2012;
3369 Burgess e Morley, 2014; Slovis 2019;).

3370 As fêmeas devem ser transportadas no máximo entre 4 a 6 semanas antes do
3371 parto, a fim de se garantir uma adequada produção de colostro. O manejo das fêmeas no
3372 periparto com banho cuidadoso da égua, limpeza e desinfecção do úbere logo após o
3373 parto e antes do potro mamar, fornecimento de colostro, garantia da transferência de
3374 imunidade passiva, monitoramento diário do úbere da égua e do comportamento do
3375 potro após o nascimento são importantes (Oliver-Espinosa O., 2018; Slovis, 2019).

3376 Em propriedades endêmicas e, em casos de surtos, há a indicação do
3377 fornecimento do colostro via mamadeira ou sondagem a fim de se evitar o contato dos
3378 potros com as mães que podem ser eliminadoras do agente nas fezes e fonte de infecção
3379 (Wohfender et al., 2009; Mallicote et al., 2012; Burgess e Morley, 2014; Slovis 2019).

3380 A limpeza diária com remoção de matéria orgânica do local de nascimento dos
3381 potros e o destino adequado das fezes e do material da cama das baias deve ser
3382 realizado (Oliver-Espinosa O., 2018; Slovis, 2019). As fezes devem ser alocadas em
3383 local específico como esterqueiras, longe do contato com os animais, nunca espalhadas
3384 nos pastos ou capineiras destinadas a alimentação animal. Os roedores podem carrear o
3385 patógeno entre os piquetes e baias, favorecendo a persistência da infecção. Controle de
3386 roedores, insetos, gatos, cachorros e pássaros e do acesso dos mesmos aos locais de
3387 armazenamento de alimentos é muito importante (Martelli et al., 2018).

3388 O monitoramento em propriedades pode ser realizado através da coleta de fezes
3389 de animais de elevado risco para *Salmonella* spp. para identificação de animais
3390 eliminadores e possíveis contaminadores das propriedades. Por exemplo, animais que
3391 retornam de um processo cirúrgico ou hospitalização que podem se contaminar no
3392 hospital, éguas que retornem de procedimentos de transferência de embrião e animais
3393 transportados recentemente (Slovis, 2019).

3394 Em surtos de salmonelose clínica a fonte de infecção pode não ser determinada e
3395 por isso o isolamento dos animais clinicamente suspeitos e em processo de recuperação
3396 deve ser realizado, e as medidas de biossegurança devem ser intensificadas devido ao
3397 potencial zoonótico da infecção (Wohfender et al., 2009. Martelli et al., 2018).

3398 A utilização de luvas, botas de plástico, aventais, pedilúvio, lavagem e
3399 desinfecção das mãos, utilização de equipamentos individuais como termômetros,
3400 cabrestos, cordas. O manejo dos animais com diarreia deve ser realizado por último,
3401 garantindo que os animais saudáveis sejam manejados primeiramente (Martelli et al.,
3402 2018; Slovis, 2019; Wohfender et al., 2009). Equipes diferentes devem ser alocadas
3403 para manejo dos animais com diarreia e animais de alto risco (Slovis, 2019). O
3404 isolamento dos animais com diarreia confirmados com salmonelose por no mínimo 30
3405 dias é recomendado. Após este período, realiza-se cultivo bacteriológico seriado de 5
3406 amostras de fezes com intervalo de 24h para confirmação do término de eliminação de
3407 *Salmonella* spp. nas fezes, seguido de limpeza e desinfecção do local de permanência do
3408 animal durante o isolamento e destino adequado das fezes dos animais com diarreia
3409 (Mallicote et al., 2012; Burgess e Morley, 2014; Wohfender et al., 2009; Slovis, 2019).

3410 Locais com elevada concentração de animais de múltiplas origens como ocorre
3411 em hospitais, centros de treinamento, eventos equestres, locais de treinamento e que
3412 apresentem elevado trânsito de animais apresentam maior risco de transmissão de
3413 doenças infecciosas (Spier, 1993; Burgess e Morley, 2014; Oliver-Espinosa O., 2018).

3414 É importante minimizar o estresse pois os fatores estressantes causam aumento
3415 da eliminação da bactéria pelos animais portadores (Owner et al., 1980). A mistura de
3416 animais como em eventos ou em hospitais veterinários representa um fator de risco para
3417 a aquisição da infecção e deve ser cuidadosamente manejada a fim de se limitar o
3418 contato entre os animais, não compartilhar equipamentos, realizar troca de roupas e
3419 lavagem das mãos a cada manejo (Owner et al., 1980; Martelli et al., 2018).

3420 Outros fatores importantes comumente identificados como fatores de risco em
3421 surtos hospitalares são as deficientes práticas desinfecção ambiental e de equipamentos,
3422 falha na instituição dos procedimentos de biossegurança da equipe do hospital, pisos
3423 que permitem o acúmulo de matéria orgânica como cimento e madeira, contaminação
3424 de equipamentos de uso comum como termômetros, sondas nasogástricas, comedouros
3425 e bebedouros (Burgess e Morley, 2014).

3426 Os hospitais devem possuir locais distintos para neonatos, pacientes com
3427 doenças graves (cólica, doença sistêmica, cirurgia eletiva), pacientes internados e
3428 pacientes ambulatoriais, unidades de terapia intensiva, locais de isolamento, e locais
3429 distintos dependendo da espécie animal (Burgess e Morley, 2014). Nos hospitais a
3430 prática de monitoramento e isolamento dos animais potencialmente eliminadores de
3431 *Salmonella* spp. nas fezes no momento da admissão e durante a hospitalização é uma
3432 estratégia que pode ser implementada a fim de se evitar a disseminação da bactéria no
3433 ambiente e infecção dos demais animais internados (Ward et al., 2005; Burgess e
3434 Morley, 2014).

3435 Pacientes apresentando cólica aguda, diarreia ou que desenvolvem diarreia
3436 durante a hospitalização, neonatos e potros em estado grave, pacientes com doenças
3437 sistêmicas graves e animais que apresentem dois dos três sinais clínicos da tríade febre,
3438 leucopenia e diarreia devem ser monitorados e isolados dos demais animais da
3439 população hospitalar (Ward et al., 2005; Burgess e Morley, 2014). O monitoramento
3440 ambiental periódico através de cultivo e PCR também podem ser implementado a fim
3441 de se evidenciar locais com maior concentração de bactérias para realização dos
3442 procedimentos de desinfecção (Ewart et al., 2001; Martelli et al., 2018).

3443 Os ambientes hospitalares apresentam um elevado desafio para o controle da
3444 salmonelose pela presença de pacientes cuja resistência às infecções está comprometida
3445 em um local onde há animais de diferentes origens. Em surtos de infecção nosocomial o
3446 controle da infecção depende do isolamento dos animais que eliminam a bactéria e a
3447 instituição de um rigoroso programa de desinfecção (Ward et al., 2005; Martelli et al.,

3448 2018). Os ambientes hospitalares são frequentemente mais contaminados próximos aos
3449 locais de manejo de animais positivos, especialmente pisos, ralos e rachaduras. É
3450 imperativo a substituição de materiais porosos como concreto não selado e madeira das
3451 instalações hospitalares por materiais não porosos (Burgess e Morley, 2014).

3452 Muitos fatores influenciam a eficácia dos desinfetantes incluindo o tipo e
3453 concentração do desinfetante, presença da matéria orgânica, efetividade no micro-
3454 organismo alvo, e a interação entre o desinfetante e os diferentes tipos de superfície
3455 (Ewart et al., 2001). Em todos os casos, a remoção da matéria orgânica é essencial para
3456 a subsequente desinfecção ser efetiva (Ewart et al., 2001).

3457 Após a limpeza realiza-se a aplicação manual de solução de hipoclorito de sódio
3458 a 1%. Deve-se deixar as superfícies secarem e posteriormente aplicar o desinfetante a
3459 base de composto fenólico (Schott et al., 2001) cloreto de amônio ou compostos a base
3460 de peróxido (Ward et al., 2005). Um período de secagem de 24h após a desinfecção e
3461 antes dos animais serem alocados novamente deve ser respeitado (Slovis, 2019).

3462 Em situações de surto, ou se no local houve a permanência de animal
3463 sabidamente positivo, deve-se proceder três ciclos de limpeza, desinfecção e secagem
3464 antes dos animais retornarem (Schott et al., 2001; Slovis, 2019). Após a desinfecção,
3465 amostras ambientais de todas as áreas limpas (bairros, equipamentos, salas de exames,
3466 centros cirúrgicos, salas de suprimentos, enfermarias) devem ser coletadas para
3467 realização de cultivo e PCR (Schott et al., 2001, Ward et al., 2005; Slovis, 2019).

3468 Adicionalmente, descarte de todos os materiais que não podem ser desinfetados e
3469 limpos, destino adequado das fezes dos animais, implementação de medidas de
3470 biossegurança das equipes, lavagem das mãos entre os tratamentos dos animais,
3471 controle de roedores, insetos, gatos, cães e pássaros devem ser realizados. Todas as
3472 áreas limpas e com resultados dos testes negativos são seladas até que todas as áreas em
3473 comum apresentem resultados negativos. Caso haja resultado positivo, todo o
3474 procedimento de limpeza e desinfecção deve ser repetido até obtenção de resultado
3475 negativo. Após o surto, medidas de monitoramento e políticas de controle da infecção
3476 devem ser instituídas. Todos os animais que chegam ao hospital com alteração
3477 gastrointestinal devem ser colocados em isolamento, assim como animais que cheguem
3478 ao hospital com febre, diarreia e neutropenia (Schott et al., 2001, Ward et al., 2005;
3479 Slovis, 2019).

3480 Outras práticas a serem implementadas são a diminuição da utilização de
3481 equipamentos de uso compartilhado, utilização de jalecos e camadas duplas de pró-pés

3482 durante o manuseio de cada animal que apresente alteração gastrointestinal, lavagem e
3483 desinfecção constante das mãos, submissão de 3 a 5 amostras de fezes seriadas com
3484 intervalo de 24h para cultivo de animais que apresentem alteração gastrointestinal e
3485 desinfecção completa das instalações a cada saída de um paciente (Schott et al., 2001,
3486 Ward et al., 2005; Slovis, 2019).

3487 O piso da sala de exame e tratamento deve ser lavado diariamente com água e
3488 desinfetado com composto fenólico duas vezes por semana e todas as baias enfermaria
3489 devem ser fechadas, limpas e desinfetadas, pelo menos uma vez ao ano. Amostras
3490 ambientais devem ser regularmente coletadas e submetidas ao cultivo bacteriológico
3491 para *Salmonella* spp. (Schott et al., 2001, Ward et al., 2005; Slovis, 2019).

3492 Embora o micro-organismo seja eliminado frequentemente de forma
3493 intermitente, em baixos níveis e por animais com infecção subclínica, as medidas
3494 preventivas devem ser implementadas com o objetivo de diminuição dos riscos de
3495 infecção dos animais tanto nos hospitais quanto nas propriedades (Slovis et al., 2019).

3496

3497 **3. OBJETIVOS DO TRABALHO**

3498

3499 Os objetivos do trabalho foram:

3500

- 3501 • Avaliar a presença de *Salmonella* spp. em amostras de fezes de animais com
3502 e sem diarreia utilizando a técnica de cultivo bacteriológico, PCR em tempo
3503 real (qPCR) pelo método de corante fluorescente (SYBR[®] Green) e sonda
3504 específica (Taqman[®]) para o gene *invA* com e sem etapa de pré-
3505 enriquecimento em tetracionato;
- 3506 • Comparar os resultados obtidos nos testes de acordo com a sintomatologia
3507 clínica apresentada pelos animais no momento da coleta da amostra de fezes;
- 3508 • Identificar os sorovares mais prevalentes;
- 3509 • Determinar o perfil de sensibilidade e de resistência genética aos
3510 antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções entéricas em seres
3511 humanos e em equinos;
- 3512 • Avaliar a presença de isolados de *Salmonella* spp. multirresistentes.

3513

3514

3515

3516 **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

3517

3518 **4.1 Comitê de ética**

3519 Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais- CEUA da
3520 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Brasil. Protocolo número
3521 0095/2020.

3522

3523 **4.2 Grupos Experimentais**

3524

3525 Através de amostragem por conveniência, foram colhidas 200 amostras de fezes
3526 de potros com até 12 meses de idade, independentemente de gênero ou raça,
3527 provenientes de haras de criação de equinos do estado de São Paulo. Durante as visitas
3528 aos haras foram selecionados, simultaneamente, potros de idades equivalentes e sob o
3529 mesmo manejo com a presença (grupo com diarreia) ou não (grupo controle) de sinal
3530 clínico de diarreia. O animal foi considerado com diarreia quando apresentava aumento
3531 na frequência, fluidez ou volume das fezes e, o controle sem diarreia foi definido como
3532 o potro da mesma propriedade não afetado pela sintomatologia clínica de diarreia no
3533 momento da coleta da amostra. Sendo assim, 100 amostras foram colhidas de animais
3534 com diarreia e 100 amostras foram colhidas de animais sem diarreia. As amostras de
3535 fezes colhidas foram classificadas segundo a sua localização geográfica, gênero, idade,
3536 raça e apresentação clínica do animal coletado.

3537 As fezes foram obtidas diretamente da ampola retal dos animais, acondicionadas
3538 refrigeradas (2° a 8°C) em frasco coletor universal estéril de 80mL (Figura 5 e Figura 6)
3539 e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Departamento de Produção Animal
3540 e Medicina Veterinária Preventiva da FMVZ da Unesp-Campus de Botucatu para a
3541 realização do cultivo microbiológico específico para *Salmonella* spp. Alíquotas de fezes
3542 foram congeladas a -80°C para detecção molecular (qPCR) da *Salmonella* spp. no
3543 Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ-
3544 Unesp-Botucatu.

3545

3546

3547



3548

FIGURA 5. Coleta de fezes direto da ampola retal.

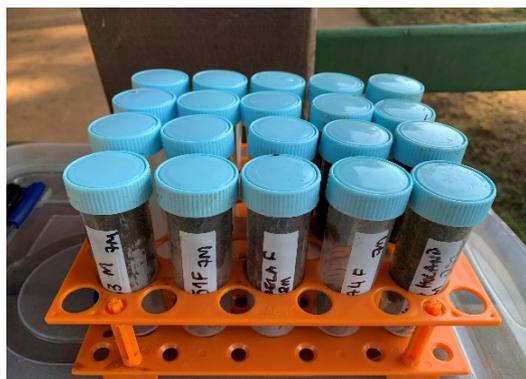


FIGURA 6. Acondicionamento do material em tubo coletor estéril.

3549

3550

3551 **4.3 Cultivo Bacteriológico das Fezes**

3552

3553 Para o diagnóstico do gênero *Salmonella* spp., foram colhidos suabes das
3554 amostras das fezes colhidas (Figura 7). No Laboratório de Microbiologia, os suabes
3555 foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo tetrionato, e
3556 incubados a 37 °C, “overnight”. Em seguida, as amostras foram cultivadas na superfície
3557 de placas contendo ágar Salmonella-Shiguella (SS), mantido em condições de
3558 aerobiose, a 37°C por 24-48 horas (Figura 8). Colônias de 1 a 2 mm de diâmetro com
3559 centro enegrecido no ágar SS, após 24 horas de incubação, sugestivas do gênero
3560 *Salmonella* spp., foram submetidas a caracterização bioquímica: produção de indol,
3561 utilização de citrato, lisina, H₂S, produção de urease, utilização de glicose e lactose,
3562 observação de motilidade e produção de fenilalanina desaminase nos meios MILI, EPM
3563 e Citrato (Figura 9). As linhagens caracterizadas como gênero *Salmonella* spp. nos
3564 testes bioquímicos, foram acondicionadas em tubos de vidro vedados com tampa de
3565 borracha, no meio de Lignieris (8 g de caldo nutriente, 5 g de gelatina e 7 g de ágar por
3566 litro de água destilada) em temperatura ambiente (25°C), em duplicata (Figura 10), e em
3567 meio líquido adicionado de 10% de glicerol estéril em freezer a -80°C até o
3568 processamento de sorotipificação e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos “in
3569 vitro”.

3570



3571

FIGURA 7. Suabes confeccionados com as amostras de fezes colhidas

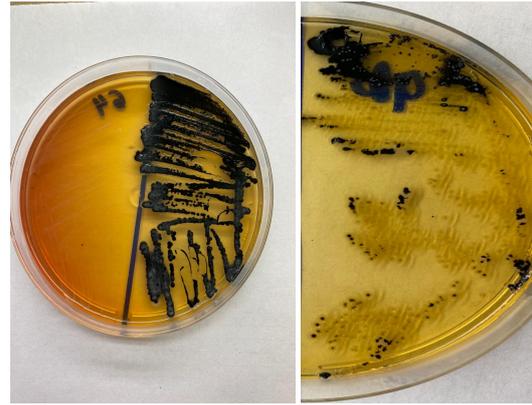
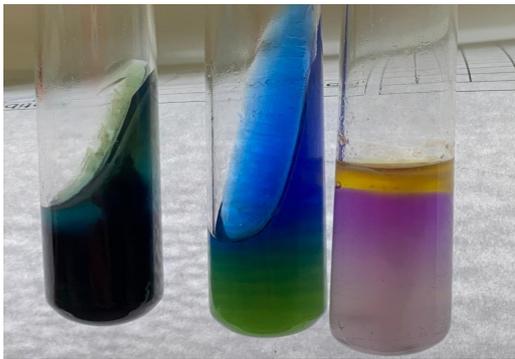


FIGURA 8. Amostras cultivadas em Ágar SS



3572

FIGURA 9. Caracterização Bioquímica

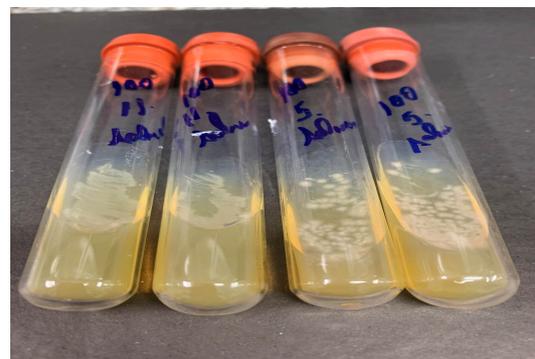


FIGURA 10. Linhagens caracterizadas, acondicionadas em meio Lignieris,

3573

3574 **4.4 Sorotipificação**

3575

3576 Os isolados *Salmonella* spp. foram sorotipificados utilizando o esquema de
 3577 White-Kauffmann-Le Minor (Grimont e Weill, 2007). Os antígenos de superfície são
 3578 identificados baseados nas reações de aglutinação com antissoros específicos elaborados
 3579 no Laboratório de Patógenos Entéricos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo/SP.

3580

3581 **4.5 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos “in vitro”**

3582

3583 Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos “in vitro” foram realizados no
 3584 Laboratório de Patógenos Entéricos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo/SP, através da
 3585 técnica de difusão Kirky-Bauer que utiliza discos de papel impregnados com soluções
 3586 padrões de antibióticos e que são dispostos na superfície de um meio sólido, como ágar
 3587 Mueller-Hinton, previamente inoculado com a suspensão bacteriana a ser testada. Após
 3588 o período de incubação de 18 horas, o diâmetro do halo formado é relacionado ao grau
 3589 de sensibilidade do micro-organismo ao antibiótico. A concentração dos discos estão

3590 ajustados para que os halos de inibição permitam diferenciar os micro-organismos
3591 susceptíveis dos resistentes e para que se possa estabelecer os valores de CIM
3592 (concentração inibitória mínima). Halos pequenos se relacionam com valores mais altos
3593 de CIM (resistentes) e halos maiores com CIM mais baixos (susceptível). Para o nosso
3594 estudo a seleção dos antimicrobianos a serem testados, bem como a análise dos
3595 resultados foram baseados nos valores estabelecidos pelo Clinical and Laboratory
3596 Standards Institute nos Estados Unidos (CLSI) humano e veterinário (CLSI M100,
3597 2020; CLSI VET08, 2018).

3598 Os padrões estabelecidos pelo CLSI humano foram considerados para os
3599 antimicrobianos: estreptomicina, aztreonam, cefoxitina, ceftriaxona, cefotaxima,
3600 ceftazidima, cefepime, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, pefloxacina, sulfonamidas,
3601 minociclina, azitromicina (CLSI M100, 2020). E os padrões estabelecidos pelo CLSI
3602 veterinário foram considerados para os antimicrobianos: amicacina, gentamicina,
3603 ampicilina, amoxicilina + ácido clavulânico, cefazolina, ceftiofur, imipenem,
3604 sulfametoxazol + trimetoprim, cloranfenicol, tetraciclina, doxiciclina foram
3605 considerados os padrões estabelecidos pelo CLSI Veterinário (CLSI VET08, 2018).

3606 Foram testados 24 antimicrobianos pertencentes a sete classes: (1) Beta
3607 lactâmicos, dividido em 4 subclasses: (a) Penicilinas: ampicilina (AMP: 10 µg),
3608 amoxicilina com ácido clavulânico (AMOX: 20/10 µg), (b) Monobactâmicos:
3609 aztreonam (AZT: 30 µg), (c1) Cefalosporinas de 1ª geração: cefazolina (CLINA:
3610 30 µg); (c2) Cefalosporina de 2ª geração: cefoxitina (CTINA: 30 µg), (c3)
3611 Cefalosporina de 3ª geração: ceftiofur (CFUR: 30 µg), ceftriaxona (CXONA: 30 µg),
3612 cefotaxima (CXIMA: 30 µg), ceftazidima (CDIMA: 30 µg), cefepime (CPIME: 30 µg),
3613 (d) Carbapenêmicos: imipenem (IPM: 10 µg); (2) Aminoglicosídeos: gentamicina
3614 (GEN: 10 µg), amicacina (AMI: 30 µg), estreptomicina (EST: 10 µg); (3)
3615 Quinolonas/Fluorquinolonas: ácido nalidíxico (ANL; 30 µg), pefloxacilina (PEF 5 µg),
3616 ciprofloxacina (CIP: 5 µg); (4) Sulfonamidas: sulfametoxazol + trimetoprima
3617 (SULT:1,25/23,75 µg), sulfonamidas (SUL: 30 µg); (5) Tetraciclina: tetraciclina (TET:
3618 30 µg), doxiciclina (DOX: 30 µg), minociclina (MIN: 30 µg); (6) Anfencóis:
3619 cloranfenicol (CLO; 30 µg); (7) Macrolídeos: azitromicina (AZI:15 µg) (Quadro 5).

3620 Os isolados foram caracterizados como multirresistentes quando apresentaram
3621 resistência a três ou mais classes de antimicrobianos no teste de sensibilidade aos
3622 antimicrobianos “in vitro” (ANVISA, 2021).

3623

3624 **QUADRO 5. Classificação dos antimicrobianos e concentração dos discos de**
 3625 **antibiograma utilizados no teste de sensibilidade aos antimicrobianos “in vitro”,**
 3626 **conforme critérios estabelecidos pelo CLSI humano e CLSI veterinário.**

Classe dos Antimicrobianos			CLSI 2018- Veterinário	CLSI 2020 - Humano	
Aminoglicosídeos			Amicacina (30µg)		
			Gentamicina (10µg)		
				Estreptomicina (10 µg)	
Beta Lactâmicos	Penicilinas	Aminopenicilina	Ampicilina (10µg)		
			Amoxicilina/ácido clavulânico		
	Monobactâmicos			Aztreonam (30µg)	
	Cefalosporinas	1ª geração		Cefazolin	
		2ª geração			Cefoxitina (30µg)
		3ª geração			Ceftiofur
				Cefotaxima (30µg)	
				Ceftazidima (30µg)	
				Cefepime (30µg)	
Carbapenêmicos			Imipenem (10µg)		
Quinolonas/Fluorquinolonas				Ácido nalidíxico (30µg)	
				Ciprofloxacina (5µg)	
				Perfloxacina (5µg)	
Sulfonamidas			Sulfametoxazol/trimetoprim (1,25/23,75µg)	Sulfonamidas (30µg)	
Cloranfenicol			Cloranfenicol (30µg)		
Tetraciclinas			Tetraciclina (30µg)	Minociclina (30 µg)	
			Doxiciclina		
Macrolídeos				Azitromicina	

3627

3628

3629 **4.6 Detecção e caracterização dos genes produtores de enzimas β-lactamases**

3630

3631 A característica molecular de resistência antimicrobiana dos isolados foi
 3632 realizado no Laboratório de Patógenos Entéricos do Instituto Adolfo Lutz, São
 3633 Paulo/SP, através da realização da reação em cadeia da polimerase para a amplificação
 3634 dos genes de resistência aos antimicrobianos β-lactâmicos dos grupos conhecidos
 3635 *bla*_{CTX-M}, *bla*_{CMY-2}, que codificam as respectivas enzimas descritas β-lactamases de
 3636 espectro estendido e β-lactamase do tipo AmpC (Fluit et al., 2001; Pitout et al., 2004;
 3637 Shah et al., 2004; Paterson e Bonomo, 2005).

3638

3639 4.6.1 Extração do DNA bacteriano:

3640

3641 As amostras foram cultivadas em placas de ágar nutriente a 37°C por 18 horas e
3642 realizada suspensão bacteriana homogênea contendo 3-4 colônias da cultura pura em
3643 água destilada estéril. O material genético bacteriano foi extraído por aquecimento a
3644 100°C durante 15 minutos e posterior centrifugação a 12.000 r.p.m durante 10 minutos
3645 (Jeong *et al*, 2011). O sobrenadante obtido foi armazenado a -20°C para utilização nos
3646 testes.

3647

3648 4.6.2 Detecção e caracterização dos genes produtores de enzimas β -lactamases

3649

3650 Foram pesquisados os genes de resistência dos grupos conhecidos *bla*_{CTX-M},
3651 *bla*_{CMY-2}, pela técnica da PCR. A sequência nucleotídica dos iniciadores utilizados,
3652 assim como, o tamanho do amplicon em pares de base e referências, encontram-se na
3653 Quadro 6.

3654

3655 **QUADRO 6. Sequência de oligonucleotídeos para os genes** das enzimas produtoras de β -
3656 lactamases.

Genes	Iniciadores (5'-3')	pb (pares de base)	Referências
<i>bla</i> _{CTX-M8}	F: GCA AGC GCA TTT TTG TTT TT R: GAC GAC TTT CTG CCT TCT GC	900	Fernandes et al, 2016
<i>bla</i> _{CMY-2}	F:ATGATGAAAAAATCGTTATGCT R: TTATTGCAGCTTTTCAAGAATGCG	1140	Cejas <i>et al</i> , 2014

3657

3658 4.6.3 Eletroforese em gel de agarose

3659

3660 A eficiência dos testes de PCR e quantificação do produto amplificado foi
3661 visualizada, por meio de eletroforese em gel de agarose. O produto da reação de PCR de
3662 cada amostra foi misturado ao tampão de amostra (0,25% de azul de bromofenol; 0,25%
3663 de xilenocianol; 25% de ficoll) e submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5%
3664 (Promega, Madison, EUA), em Tampão TAE (Tris-base 2M, Ácido acético 0,04M,
3665 EDTA 0,01M pH 8,0). O tamanho dos fragmentos amplificados foi estimado por
3666 comparação com padrão de peso molecular de 100 pb. A visualização das bandas foi
3667 realizada mediante incubação do gel em solução de brometo de etídio (1,5 mg/mL) por

3668 15 minutos. Para registro, os géis foram fotografados através do sistema GEL DOC EZ
3669 system (Bio-Rad) e os arquivos foram salvos na extensão Tiff para posterior análise.

3670

3671 **4.7 Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real - qPCR**

3672

3673 **4.7.1 Extração de DNA**

3674

3675 Em nosso estudo, a extração de DNA diretamente das fezes foi realizada
3676 utilizando o Kit E.Z.N.A[®] Stool DNA Kit (Omega Bio-TekTM, Norcross, EUA)
3677 seguindo instruções do fabricante.

3678 A extração do DNA utilizando o processo de enriquecimento seletivo das fezes
3679 em tetracionato, foi realizado através da inoculação de aproximadamente, 5g de fezes
3680 em 3mL de caldo de pré-enriquecimento seletivo tetracionato e, após 24h de incubação a
3681 37°C, retirou-se o sobrenadante que foi mantido a -80°C até a realização da extração do
3682 DNA. O DNA foi extraído utilizando ReliaPrepTM Blood gDNA Miniprep System a
3683 partir de 200 µL do sobrenadante do caldo de pré-enriquecimento, seguindo as
3684 recomendações do fabricante.

3685 A pureza e qualidade do DNA extraído por ambas as técnicas de extração foi
3686 determinado por espectrofotometria (Nanodrop 2000 Spectrofotômetro, Thermo
3687 ScientificTM) e por um conjunto de primers descrito por Windsor et al. (2006) (PanB-
3688 283 F forward primer 5'-GGATGATCAGCCCACTGGA-3' e PanB-352 R reverse
3689 primer 5'-CCAATATTCCTCACTGCTGCC-3' -) para a detecção do 16S universal. O
3690 DNA foi então estocado a temperatura de -80°C para posterior análise.

3691

3692 **4.7.2 Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) para *Salmonella*** 3693 **spp.**

3694

3695 Todas as amostras de DNA purificados foram avaliadas para a presença do gene
3696 de invasão (*invA*) por qPCR através do uso de agente intercalante (SYBR[®] Green) e
3697 também pela técnica de sonda Taqman[®]. A técnica de qPCR Taqman[®] foi realizada
3698 utilizando 10 µL GoTaq[®] Probe qPCR Master Mix, 0,4 µM de cada primer (forward
3699 primer *invA*-156f; 5'-CATTCTATGTTTCGTCATTCCATTACC-3' e reverse primer
3700 *invA*-288r; 5'-AGGAAACGTTGAAAACTGAGGATTCT-3'), 0,3 µM de
3701 probe (*invA*-189p; FAM- TCTGGTTGATTCCTGATCGCACTGAATATC-TAMRA)

3702 e 2 µL da amostra, resultando em 20 µL de reação (Pusterla et al., 2010). Do mesmo
 3703 modo, a qPCR SYBR[®] Green foi realizada com um volume final de 20 µL, utilizando
 3704 10 µL de GoTaq[®] qPCR Master Mix, 0.3 µM de cada primer (forward primer *invA*-5-
 3705 deg F 5'-GATYTGAARGCCGGTATTATTG-3' e reverse primer *invA*-5 R 5'-
 3706 ATAAACTTCATCGCACCGTCA-3'), e 5 µL de amostra (Barbau-Piednoir et al. 2013)
 3707 (Quadro 7).

3708

3709 **QUADRO 7. Sequência de oligonucleotídeos para o gene *invA***

Genes	Iniciadores (5'-3')	pb	Referências
<i>InvA</i> -5-deg	F (5'-GATYTGAARGCCGGTATTATTG-3') R (5'-ATAAACTTCATCGCACCGTCA-3')	107	Barbau-Piednoir et al., 2013
<i>InvA</i> -156f <i>InvA</i> -288r <i>InvA</i> -189p	F (5'-CATTCTATGTTTCGTCATTCCATTACC-3') R (5'-AGGAAACGTTGAAAACTGAGGATTCT-3') Probe: (FAM-TCTGGTTGATTTCTGATCGCACTGAATATC-TAMRA)	132	Pusterla et al., 2010

3710

3711 A qPCR foi realizada utilizando 7500 Real Time PCR System (Applied
 3712 Biosystems) através do protocolo de ciclagem térmica padrão: 2 min a 50 °C, 10 min a
 3713 95 °C e 40 ciclos de 15 s a 95 °C e 60 s a 60 °C, com a curva de dissociação para as
 3714 reações utilizando agentes intercalantes. Os resultados foram reportados
 3715 qualitativamente (positivo ou negativo) e quantitativamente utilizado a curva padrão
 3716 como o número de cópias do gene *invA*/µL de DNA purificado. Amostras com
 3717 quantificação de ciclo (“Cq”) menor ou igual a 40 foram consideradas positivas. O
 3718 limite de detecção foi medido usando diluições de 10 vezes de unidades formadoras de
 3719 colônias pré-determinadas de *Salmonella* enterica subespécie enterica sorovar
 3720 Typhimurium (ATCC[®] 14028TM) adicionado a solução salina tamponada com fosfato e
 3721 fezes de equinos livres de *Salmonella* spp. O limite de detecção foi de 0,4 por reação
 3722 usando sonda (DNA isolado de unidades formadoras de colônia pré-determinadas por
 3723 PBS e fezes contaminadas) e de 1 e 0,1 organismos por reação usando agente
 3724 intercalante, com DNA isolado de unidades formadoras de colônia pré-determinadas por
 3725 PBS de *Salmonella* spp. e fezes contaminadas, respectivamente.

3726

3727 4.8 Análise Estatística

3728

3729 O teste do qui-quadrado foi realizado para avaliar a relação entre os métodos de
 3730 cultivo bacteriológico, probe qPCR e qPCR com agente intercalante para detecção de

3731 *Salmonella* spp. Por meio do mesmo teste, as variáveis idade e sinal clínico foram
3732 relacionadas com o método diagnóstico. O coeficiente Kappa foi usado para avaliar a
3733 concordância entre os resultados dos ensaios de qPCR usando o DNA extraído das fezes
3734 e o caldo de pré-enriquecimento com tetracionato. SAS Studio® (Statistical Analysis
3735 System, Carolina do Norte, EUA) foi usado para realizar a análise estatística e a
3736 significância estatística foi estabelecida em $P < 0,05$.

3737

3738 **5. RESULTADOS**

3739

3740 **5.1 Grupos Experimentais**

3741

3742 Foram colhidas 200 amostras de fezes de equinos com até 12 meses de idade
3743 (Figura 11, Figura 12, Figura 13, Figura 14), criados em 16 Regiões Geográficas
3744 Imediatas (Adamantina-Lucélia, Amparo, Assis, Avaré, Bauru, Botucatu, Bragança
3745 Paulista, Campinas, Catanduva, Mogi-Guaçu, Ribeirão Preto, São Carlos, São João da
3746 Boa Vista, São Joaquim da Barra-Orlândia, Sorocaba, Tatuí) pertencentes a oito
3747 Regiões Geográficas Intermediárias do estado de São Paulo (Araraquara, Bauru,
3748 Campinas, Marília, Presidente Prudente, Ribeirão Preto, São José do Rio Preto,
3749 Sorocaba), incluindo 26 propriedades em 25 municípios (Altinópolis, Americana,
3750 Amparo, Arandu, Assis, Atibaia, Avaré, Bauru, Botucatu, Bragança, Catanduva,
3751 Espírito Santo do Pinhal, Indaiatuba, Ipuã, Itapira, Jaguariúna, Mariápolis, Mogi-Mirim,
3752 Monte Mor, Porto Feliz, Quadra, Santo Antônio da Posse, São Carlos, Sorocaba, Tatuí).
3753 As amostras foram colhidas de uma propriedade por município, com exceção do
3754 município de Americana/SP onde foram colhidas amostras de 2 propriedades (Tabela 5
3755 e Figura 15). A população estudada disponível nas 26 propriedades, compreende um
3756 universo de 5.627 animais e 1.168 potros nascidos ao ano, apresentando média de 216
3757 animais e de 45 potros nascidos ao ano por propriedade (Tabela 5).

3758

3759

3760

3761

3762

3763

3764

3765 TABELA 5. Número total de animais, número de potros nascidos ao ano e de animais
 3766 coletados por propriedade nos 25 municípios do Estado de São Paulo, pertencentes as
 3767 16 Regiões Geográficas Imediatas para o diagnóstico de *Salmonella* spp. Botucatu, SP,
 3768 2021.

Região Geográfica Imediata	Municípios	Propriedade	Nº de Animais por propriedade	Nº Potros Nascidos ao Ano	Nº Animais Coletados
São Carlos	São Carlos	Propriedade 1	30	5	4
Bauru	Bauru	Propriedade 2	700	147	13
Botucatu	Botucatu	Propriedade 3	150	40	2
Amparo	Amparo	Propriedade 4	350	60	16
Bragança Paulista	Atibaia	Propriedade 5	35	10	2
	Bragança Paulista	Propriedade 6	22	8	2
Campinas	Americana	Propriedade 7	180	30	8
		Propriedade 8	18	4	4
	Indaiatuba	Propriedade 9	100	5	2
	Jaguariúna	Propriedade 10	240	65	22
	Monte Mor	Propriedade 11	600	68	21
Mogi-Guaçu	Santo Antônio da Posse	Propriedade 12	146	32	4
	Itapira	Propriedade 13	250	60	10
São João da Boa Vista	Mogi Mirim	Propriedade 14	180	45	2
	Espírito Santo do Pinhal	Propriedade 15	95	25	7
Assis	Assis	Propriedade 16	35	3	2
Adamantina-Lucélia	Mariápolis	Propriedade 17	400	80	10
Ribeirão Preto	Altinópolis	Propriedade 18	35	10	4
São Joaquim da Barra-Orlândia	Ipuã	Propriedade 19	800	150	7
Catanduva	Catanduva	Propriedade 20	15	3	2
Avaré	Arandu	Propriedade 21	60	15	2
	Avaré	Propriedade 22	224	48	12
Sorocaba	Porto Feliz	Propriedade 23	400	140	22
	Sorocaba	Propriedade 24	100	20	2
Tatuí	Quadra	Propriedade 25	212	75	6
	Tatuí	Propriedade 26	250	20	12
16	25	26	5627	1168	200

3769

3770



3771

FIGURA 11. Potros coletados da Propriedade 23



FIGURA 12. Potros coletados da Propriedade 4

3772



3773

FIGURA 13. Potro coletado da Propriedade 11



FIGURA 14. Potro coletado da Propriedade 1

3774

3775 A distribuição dos animais coletados por localização geográfica, propriedade e
3776 sintomatologia clínica pode ser visualizada na Tabela 6.

3777

3778 **TABELA 6.** Distribuição dos animais coletados por localização geográfica, propriedade e
3779 sintomatologia clínica. Botucatu, SP, 2021.

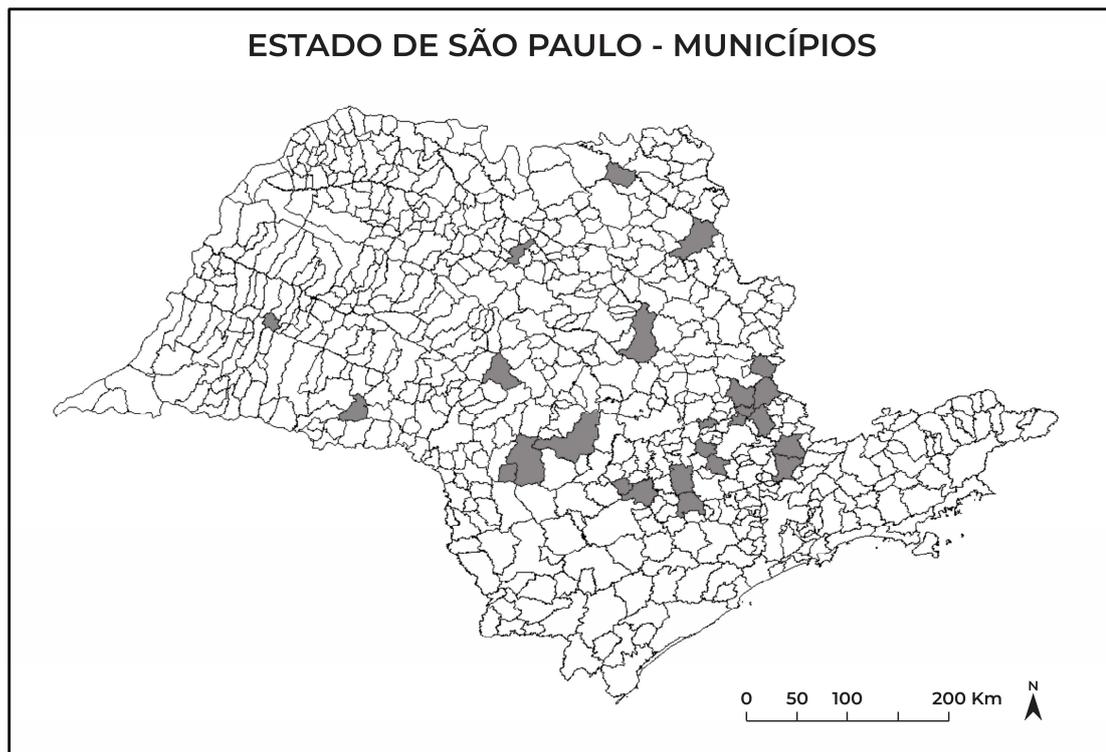
3780

Municípios	Nº Propriedades	Nº Animais Coletados	Com Diarreia	Sem Diarreia
São Carlos	Propriedade 1	4	3	1
Bauru	Propriedade 2	13	7	6
Botucatu	Propriedade 3	2	1	1
Amparo	Propriedade 4	16	8	8
Atibaia	Propriedade 5	2	1	1
Bragança Paulista	Propriedade 6	2	1	1
Americana	Propriedade 7	8	4	4
	Propriedade 8	4	2	2
Indaiatuba	Propriedade 9	2	1	1
Jaguariúna	Propriedade 10	22	11	11
Monte Mor	Propriedade 11	21	11	10
Santo Antônio da Posse	Propriedade 12	4	2	2
Itapira	Propriedade 13	10	5	5
Mogi Mirim	Propriedade 14	2	1	1
Espírito Santo do Pinhal	Propriedade 15	7	2	5
Assis	Propriedade 16	2	1	1
Mariápolis	Propriedade 17	10	5	5
Altinópolis	Propriedade 18	4	2	2
Ipuã	Propriedade 19	7	3	4
Catanduva	Propriedade 20	2	1	1
Arandu	Propriedade 21	2	1	1
Avaré	Propriedade 22	12	6	6
Porto Feliz	Propriedade 23	22	11	11
Sorocaba	Propriedade 24	2	1	1
Quadra	Propriedade 25	6	3	3
Tatuí	Propriedade 26	12	6	6
25	26	200	100	100

3781

3782

3783 **FIGURA 15. Localização dos municípios do Estado de São Paulo amostrados durante o**
3784 **estudo.**



3785

3786

3787 Foram colhidos 87 animais do sexo masculino (n=45 com diarreia e n= 42 sem
3788 diarreia) e 113 animais do sexo feminino (n=55 com diarreia e n= 58 sem diarreia).
3789 Segundo a raça 85 (42,5%) animais eram Mangalarga Marchador (42 com diarreia e 43
3790 sem diarreia), 53 (26,5%) Quarto de Milha (26 com diarreia e 27 sem diarreia), 21
3791 (10,5%) Árabe (11 com diarreia e 10 sem diarreia), 21 (10,5%) Brasileiro de Hipismo
3792 (11 com diarreia e 10 sem diarreia), 12 (6%) Puro Sangue Inglês (6 com diarreia e 6
3793 sem diarreia), 6 (3%) Mangalarga (3 com diarreia e 3 sem diarreia), 2 (1%) Paint Horse
3794 (1 com diarreia e 1 sem diarreia) (Tabela 7).

3795 Com relação a faixa etária, 71 (35,5%) animais possuíam até 30 dias de idade (45 com
3796 diarreia e 26 sem diarreia), 60 (30%) animais entre 31 a 60 dias de idade (31 com
3797 diarreia e 29 sem diarreia), 34 (17%) animais entre 61 a 90 dias de idade (12 com
3798 diarreia e 22 sem diarreia), 10 (5%) animais entre 91 a 120 dias de idade (5 com diarreia
3799 e 5 sem diarreia), 18 (9%) animais entre 121 a 240 dias de idade (4 com diarreia e 14
3800 sem diarreia) e 7 (3,5%) animais entre 241 a 360 dias (3 com diarreia e 4 sem diarreia).
3801 A idade dos animais foi determinada pelo veterinário do animal no momento da colheita
3802 da amostra de fezes (Tabela 8).

3803 **TABELA 7. Distribuição dos animais coletados por raça, nº de propriedades e**
 3804 **sintomatologia clínica. Botucatu, SP, 2021.**

Raças	nº Animais	nº Propriedades	Com Diarreia	Sem Diarreia
Árabe	21	1	11	10
BH	21	4	11	10
Mangalarga	6	2	3	3
Mangalarga Marchador	85	8	42	43
Paint Horse	2	1	1	1
PSI	12	1	6	6
Quarto de Milha	53	9	26	27
Nº Total	200	26	100	100

3805 **TABELA 8. Distribuição dos animais coletados por idade e sintomatologia clínica.**
 3806 **Botucatu, SP, 2021.**

Idade	nº Animais	Com Diarreia	Sem Diarreia
0 a 30 dias	71	45	26
31 a 60 dias	60	31	29
61 a 90 dias	34	12	22
91 a 120 dias	10	5	5
121 a 240 dias	18	4	14
241 a 360 dias	7	3	4
Nº Total	200	100	100

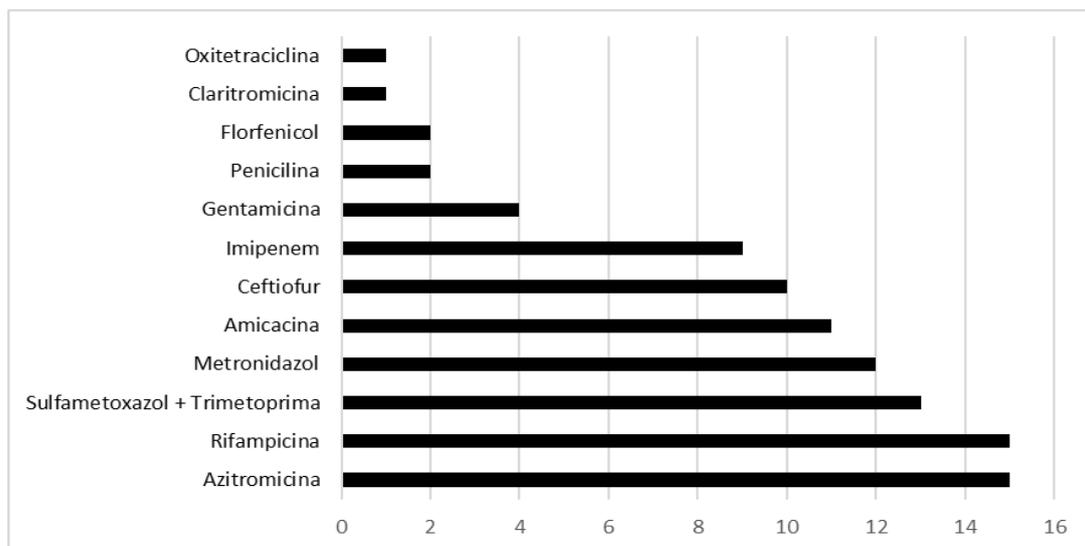
3808
 3809
 3810 **5.2 Cultivo Bacteriológico das fezes**

3811
 3812 Dos 200 animais amostrados durante o estudo, *Salmonella* spp. foi isolada em 30
 3813 animais (15%) e 170 (85%) animais apresentaram resultado negativo. Os animais
 3814 pertenciam à 15 propriedades assim distribuídos: Propriedade 11 (oito animais),
 3815 Propriedade 23 e Propriedade 10 com três animais cada, Propriedades 5,12,22,24 com
 3816 dois animais cada e Propriedades 1,2,4,15,16,18,19,25 com um animal cada. Dos 30
 3817 isolamentos realizados, 21 isolados eram de animais com diarreia (70%) e 9 animais
 3818 sem diarreia (30%). As análises realizadas comparando os resultados do cultivo
 3819 bacteriológico e o status de saúde dos animais revelou que houve diferença
 3820 estatisticamente significativa entre os resultados de cultivo bacteriológico positivo entre
 3821 os animais com diarreia e sem diarreia. Sendo assim, dos 100 animais com diarreia 21%
 3822 apresentaram cultivo bacteriológico positivo e dos 100 animais sem diarreia 9% foram

3823 positivos no cultivo bacteriológico. Existiu associação significativa entre as variáveis,
3824 ou seja, um animal com diarreia apresentou probabilidade 2,3 vezes maior de possuir
3825 cultivo bacteriológico positivo quando comparado a um animal considerado sem
3826 diarreia ($p=0,0175$). Quanto ao gênero 18 animais eram machos (60%) e 12 fêmeas
3827 (40%). No que se refere a raça, 12 animais eram Mangalarga Marchador (40%), 8
3828 Árabes (26,67%), 7 Quarto de Milha (23,33%), 2 Mangalarga (6,67%) e 1 Brasileiro de
3829 Hipismo (3,33%). Em relação a idade 9 animais (30%) apresentavam até 30 dias de
3830 idade, 9 animais (30%) possuíam 1 mês de idade, 6 animais (20%) com 2 meses, 1
3831 animal (3,33%) com 3 meses, 1 animal (3,33%) com 4 meses, 1 animal (3,33%) com 5
3832 meses, 2 animais (6,68%) com 10 meses e 1 animal (3,33%) com 12 meses. Sendo
3833 assim, 80% dos animais positivos no cultivo bacteriológico apresentavam até 2 meses
3834 de idade.

3835 Dos animais que apresentaram isolamento de *Salmonella* spp., 16 (53,33%)
3836 receberam tratamento com antimicrobianos e 14 (46,67%) não receberam tratamento
3837 com antibioticoterapia antes da coleta das fezes. Dos 200 animais incluídos no estudo,
3838 141 animais (70,5%) não estavam sob tratamento com antimicrobianos no momento da
3839 coleta da amostra e 59 animais (29,5%) estavam sob tratamento com antibioticoterapia
3840 no momento da coleta das amostras, sendo todos classificados como com diarreia.
3841 Sendo assim, 59% dos animais com diarreia haviam recebido antibioticoterapia em
3842 momentos anteriores a coleta da amostra. Os principais antimicrobianos utilizados
3843 podem ser visualizados no Gráfico 1.

3844



3845

3846 **GRÁFICO 1. Antimicrobianos utilizados no tratamento dos animais com diarreia**
3847 **participantes do estudo.**

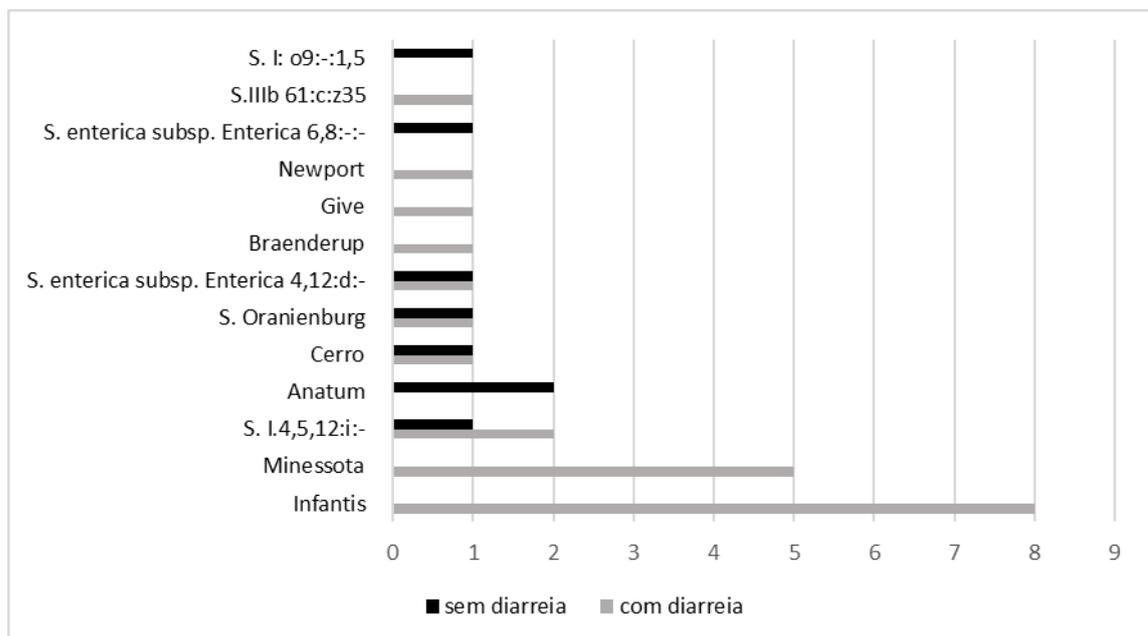
3848 5.3 Sorotipificação.

3849

3850 Dos 30 isolados de *Salmonella* spp. obtidos pelo cultivo bacteriológico, 29
3851 foram sorotipificados no Instituto Adolfo Lutz. Houve a identificação de 13 sorovares
3852 diferentes determinados através do método White-Kauffman-LeMinor. Um animal
3853 classificado como com diarreia apresentou identificação de dois sorovares (*S.* IIIb
3854 61:c:z35 e *S.* Infantis), nos demais animais, a sorotipificação resultou na identificação
3855 de somente um sorovar. Sendo assim, dos 29 isolados encaminhados ao Instituto Adolfo
3856 Lutz obtivemos 30 sorovares.

3857 O sorovar *S.* Infantis foi identificado em 6 propriedades, *S.* Minnessota em 3
3858 propriedades e *S.*I. 4,5,12:i:-, *S.* Cerro, *S.* Oranienburg em duas propriedades diferentes
3859 cada. Já os sorovares *S.* Newport, *S.* Anatum, *S.* I.:O9:-:1,5, *S.* Give, *S.* 4,12:d:-, *S.* 6,8:-
3860 :-, *S.* Braenderup, *S.* IIIb 61:c:z35 foram identificados em uma propriedade cada, ou
3861 seja, em 8 propriedades diferentes. A frequência de detecção dos sorovares pode ser
3862 visualizada no Gráfico 2.

3863



3864

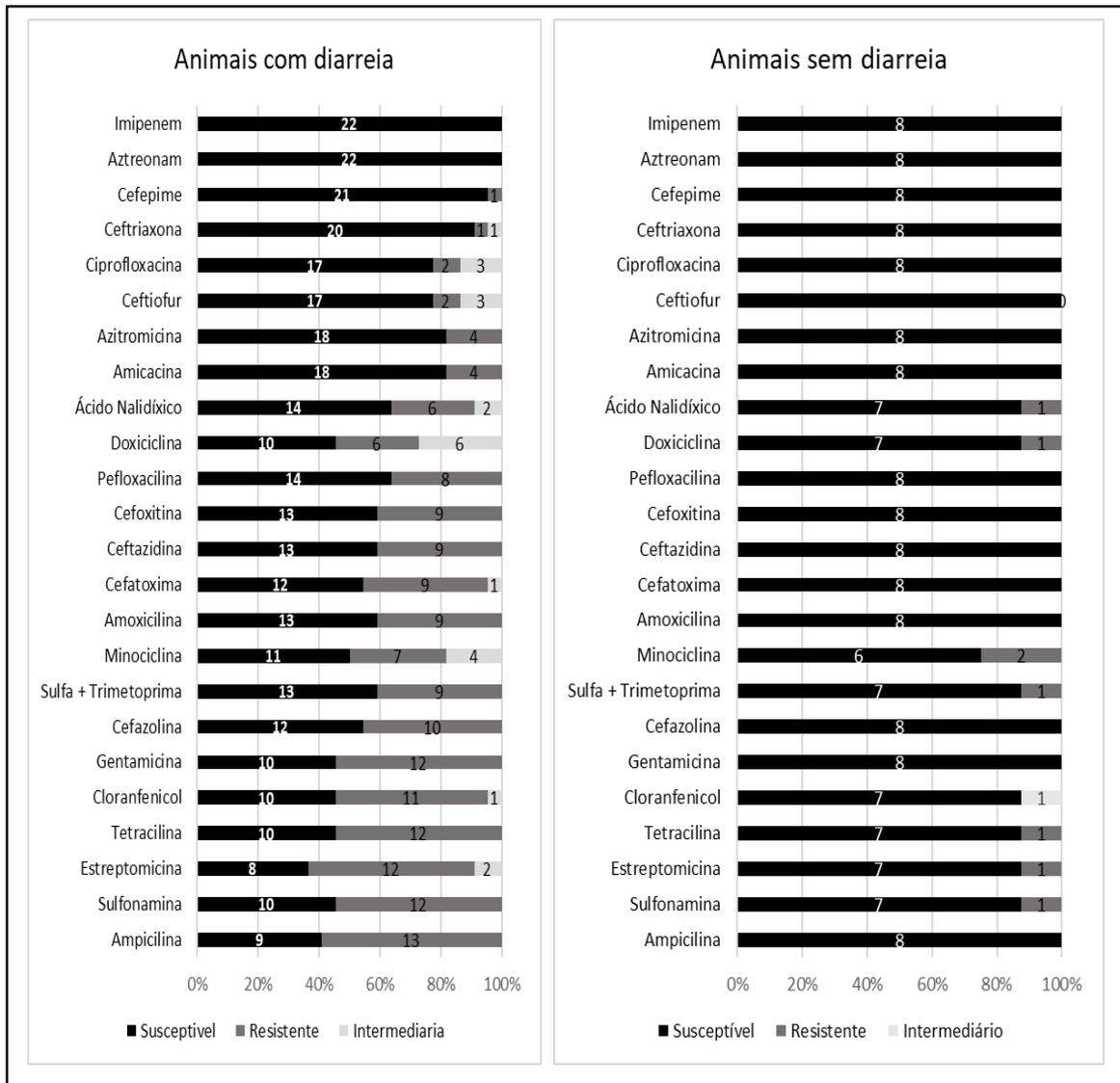
3865 **GRÁFICO 2.** Frequência de detecção dos sorovares determinados através do método
3866 White-Kauffman-LeMinor. São Paulo, 2021.

3867

3868 5.4 Perfil de Sensibilidade aos antimicrobianos “in vitro”

3869 Os 30 sorovares identificados foram 100% susceptíveis aos antimicrobianos
3870 aztreonam, imipenem. E, foram resistentes aos antimicrobianos: ampicilina (43,3%),

3871 tetraciclina (43,3%), sulfonamida (43,3%), estreptomina (43,3%), cloranfenicol
 3872 (36,6%), eritromicina (36,6%), gentamicina (36,6%), cefazolina (33,3%),
 3873 sulfametoxazol + trimetoprima (33,3%), ceftazidima (30%), amoxicilina + ácido
 3874 clavulânico (30%), cefotaxima (30%), ceftazidima (30%), minociclina (30%),
 3875 pefloxacilina (26,6%), ácido nalidixico (23,3%), doxiciclina (23,3%), amicacina
 3876 (13,3%), azitromicina (10%), ciprofloxacina (6,6%), ceftiofur (6,6%), ceftriaxona
 3877 (3,33%) e cefepime (3,33%) (Gráfico 3).
 3878



3879
 3880
 3881
 3882
 3883

GRÁFICO 3. Perfil fenotípico de sensibilidade dos sorovares de *Salmonella* spp. em animais com e sem diarreia, aos 24 antimicrobianos testados no estudo. São Paulo, 2021.

3884 Dos 30 sorovares, três (10%) foram resistentes a menos de três classes de
 3885 antimicrobianos, 12 (40%) foram pansusceptíveis (susceptível a todos os

3886 antimicrobianos), 13 (43,33%) multirresistentes (resistente a mais de três classes de
3887 antimicrobianos) e dois (6,67%) apresentaram sensibilidade intermediária.

3888 Os 12 sorovares identificados como pansusceptíveis apresentaram a seguinte
3889 distribuição: *S. Infantis* (n=3), *S. Anatum* (n=2), *S. Cerro* (n=2), *S. enterica* subsp.
3890 *enterica* 4,12:d:- (n=1), S.I:O9:-:1,5 (n=1), S. IIIb 61:c:z35 (n=1), *S. Oranienburg* (n=1),
3891 *S. Braenderup* (n=1). Foram obtidos de sete animais com diarreia (58,3%) e de cinco
3892 animais sem diarreia (38,46%) provenientes de nove propriedades sendo assim
3893 distribuídos: Propriedades 4,5,16,18,19,24,25 com 1 animal cada (cinco com diarreia e
3894 dois sem diarreia), Propriedade 11 com três animais sem diarreia e Propriedade 12 com
3895 dois animais com diarreia. Em cinco propriedades (Propriedades 12,16,18,19,25) houve
3896 somente a detecção de sorovares de *Salmonella* spp. pansusceptíveis. Os sorovares
3897 pansusceptíveis apresentaram a seguinte distribuição quanto a raça: Quarto de Milha
3898 (25%; n=3), Árabe (25%; n=3), Mangalarga Marchador (25%; n=3), Mangalarga
3899 (16,67%; n=2), Brasileiro de Hipismo (8,33%; n=1). Quanto a idade, 10 animais
3900 (76,92%) eram menores de seis meses de idade e dois animais (15,38%) maiores de seis
3901 meses de idade. Quanto ao gênero, quatro animais eram fêmeas (33,33%) e oito animais
3902 eram machos (66,67%).

3903 Entre os 16 sorovares de *Salmonella* spp. que exibiram resistência a pelo menos
3904 um antimicrobiano, um total de 15 padrões fenotípicos de resistência foram encontrados
3905 (Quadro 8). De acordo com o número de classes de antimicrobianos, os sorovares que
3906 apresentaram o maior perfil de resistência foram: *S. Minnessota*, *S. Newport*, *S.*
3907 *Oranienburg*, *S. Infantis* (Quadro 8).

3908 O perfil de resistência aos antimicrobianos dos sorovares multirresistentes variou
3909 de 5 a 19 antimicrobianos por sorovar, pertencentes às classes dos β -lactâmicos,
3910 aminoglicosídeos, quinolonas, sulfonamidas, tetraciclina, anfenicóis, macrolídeos
3911 (Quadro 9). Os sorovares multirresistentes foram 100% resistentes a estreptomicina e
3912 tetraciclina. Quanto aos demais antimicrobianos resistência foi constatada a ampicilina
3913 (92,3%), gentamicina (92,3%), sulfonamina (92,3%), cloranfenicol (84,61%),
3914 amoxicilina (69,23%), cefazolina (69,23%), cefoxitina (69,23%), ceftazidima (69,23%),
3915 pefloxacilina (69,23%), sulfametoxazol + trimetoprima (69,23%), cefoxitina (63,23%),
3916 minociclina (62%), cefotaxima (61,53%), minociclina (61,53%) ácido nalidíxico
3917 (53,84%), doxiciclina (53,84%), amicacina (30,76%), azitromicina (30,76%),

3918 ciprofloxacina (15,38%), ceftiofur (7,69%). A sensibilidade foi de 100% aos
3919 antimicrobianos aztreonam, cefepime, imipenem e de 92,3% a Ceftriaxona.

3920 Dos 13 sorovares multirresistentes, um (7,69%) foi obtido de animal sem
3921 diarreia, e 12 (92,3%) de animais com diarreia. Eram provenientes de seis propriedades
3922 (23%), sendo assim distribuídos: Propriedade 11 com quatro animais (três com diarreia
3923 e um sem diarreia), Propriedade 10 e 23 com três animais cada (seis com diarreia) e
3924 Propriedades 4,5,15 com um animal cada (três com diarreia) (Quadro 9). Quanto a raça,
3925 os sorovares multirresistentes foram: 69,2% (nove animais) pertencentes a raça
3926 Mangalarga Marchador e 30,8% (quatro animais) a raça Árabe. Quanto ao gênero
3927 53,8% (sete animais) eram fêmeas e 46,15% (seis animais) eram machos. Em relação a
3928 idade, sete animais (53,8%) com até 30 dias de idade, três animais (23,1%) com um mês
3929 de idade, dois animais (15,4%) com dois meses de idade e um animal (7,7%) com
3930 quatro meses de idade (Quadro 10).

3931 A classificação dos sorovares de *Salmonella* spp. identificados no estudo de
3932 acordo com o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, produção de enzimas e de
3933 acordo com sinais clínicos (presença ou ausência de diarreia) propriedade, idade, raça e
3934 gênero dos animais dos quais os sorovares foram identificados podem ser visualizados
3935 no Quadro 10.

3936 A análise genética para detecção e caracterização dos genes produtores de
3937 enzimas β -lactamases, revelou 10 sorovares (33,3%), produtores de enzimas. Sendo 1
3938 sorovar produtor de ESBL (*S. Give*), e 9 sorovares produtores de enzima AmpC (*S.*
3939 *Minnessota*; n= 4, *S. Infantis*; n=3, *S. Oranienburg*; n=1, *S. Newport*; n=1) (Quadro 8).
3940 Todos os sorovares produtores de AmpC apresentaram características de
3941 multirresistência e foram originários de animais com diarreia, provenientes de seis
3942 propriedades. Quanto a idade 50% dos animais (cinco animais) possuíam até 30 dias de
3943 idade, 30% (3 animais) com dois meses de idade, 10% (um animal) com um mês de
3944 idade e 10% (um animal) com quatro meses de idade. Quanto a raça 60% dos animais
3945 (seis animais) eram da raça Mangalarga Marchador, 30% (três animais) da raça Árabe e
3946 10% (um animal) da raça Quarto de Milha (Quadro 9 e Quadro 10).

3947

3948

3949

3950 **QUADRO 8. Perfil fenotípico de resistência aos antimicrobianos e característica de produção de enzimas dos sorovares de *Salmonella* spp. que**
 3951 **apresentaram resistência aos antimicrobianos testados no estudo. São Paulo, 2021.**

Sorovares	Perfil fenotípico de resistência aos antimicrobianos	Nº Antimicrobianos Resistentes	Nº Classes de Antimicrobianos Resistentes	Produção Enzimas
S. Minnessota	AMP-AMOX-CLINA-CTINA-CXIMA-CDIMA- GEN-AMI-EST-ANL-PEF-CIP-SUL-SULT-TET-DOX-MIN-CLO-AZI	19	7	AmpC
S. Newport	AMP-AMOX-CLINA-CTINA-CXIMA-CDIMA- GEN- EST-PEF-CIP-SUL-SULT-TET-DOX-MIN-CLO	16	6	AmpC
S. Minnessota	AMP-AMOX- CLINA-CTINA-CXIMA-CDIMA-GEN-AMI-EST-ANL-PEF-SUL-SULT-TET-MIN-CLO	16	6	AmpC
S. Oranienburg	AMP-AMOX- CLINA-CFUR-CXIMA-CDIMA-GEN-EST-SUL-SULT-TET-DOX-CLO-AZI	15	6	AmpC
S. Minnessota	AMP-AMOX-CLINA-CTINA-CXIMA-CDIMA-GEN-AMI-EST-SUL-SULT-TET-MIN-CLO-AZI	15	6	AmpC
S. Minnessota	AMP-AMOX- CLINA-CTINA-CDIMA-GEN-AMI-EST-ANL-PEF-SUL-SULT-TET-CLO	14	6	AmpC
S. Infantis	AMP-AMOX- CLINA-CTINA-CXIMA-CDIMA-GEN-EST-PEF-SUL-SULT-TET-CLO	13	6	AmpC
S. Infantis	AMP-AMOX-CDIMA-CTINA-CXIMA-CDIMA-GEN-EST-SUL-SULT-TET-CLO-AZI	13	6	AmpC
S. Infantis	AMP-AMOX-CLINA-CTINA-CXIMA-CDIMA-GEN-EST-SUL-SULT-TET-CLO	12	5	AmpC
S. Minnessota	AMP-GEN-EST-ANL- PEF-SUL-TET-DOX-MIN-CLO	10	6	-
S. I.4,5,12:i- (S. Typhimurium monofásica)				
S. I.4,5,12:i- (S. Typhimurium monofásica)	AMP-GEN-EST-ANL-PEF-SUL-TET-DOX-MIN	9	5	-
S. Give	AMP-CLINA-CFUR-CXONA-CXIMA-CPIME	6	1	ESBL
S. I.4,5,12:i- (S. Typhimurium monofásica)	EST-ANL-PEF-TET-DOX-MIN	5	3	-
S. enterica subsp. Enterica 6,8:-:-	SUL-SULT	2	1	-
S. enterica subsp. Enterica 4,12:d:-	MIN	1	1	-

3952
 3953 AMP (ampicilina), AMOX (Amoxicilina), CLINA (cefazolina), CTINA (cefoxitina), CFUR (ceftiofur), CXONA (Ceftriaxona), CXIMA (cefotaxima), CDIMA (ceftazidima),
 3954 GEN (gentamicina), AMI (amicacina), EST (estreptomicina), ANL (ácido nalidíxico), PEF (pefloxacilina), CIP (ciprofloxacina), SUL (sulfonamidas), SULT (sulfametoxazol
 3955 + trimetoprima), TET (tetraciclina), DOX (doxiciclina), MIN (Minociclina), CLO (cloranfenicol), AZI (azitromicina). AmpC: enzima AmpC. ESBL: enzimas β -lactamases de
 3956 espectro estendido.
 3957

3958 **QUADRO 9. Perfil fenotípico de resistência aos antimicrobianos, dos 13 sorovares de *Salmonella* spp. que apresentaram característica de**
 3959 **multirresistência. São Paulo, 2021.**

Sorovares	Propriedade	Presença de Diarreia	Enzimas	Nº Antimicrobianos aos quais foram resistentes	Beta- Lactâmicos								Aminoglicosídeos			Quinolonas			Sulfonamidas		Tetraciclina			Anfenicois	Macrolídeos		
					Penicilina		Cefalosporinas																				
							1º	2º	3º																		
					AMP	AMOX	CLINA	CTINA	CFUR	CXONA	CXIMA	CDIMA	GEN	AMI	EST	ANL	PEF	CIP	SUL	SULT	TET	DOX	MIN	CLO	AZI		
S. Minessota	23	SIM		10	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	I	R	S	R	R	R	R	R	S	
S. Minessota	11	SIM	AmpC	14	R	R	R	R	S	S	I	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	I	S	R	R	S	
S. Minessota	11	SIM	AmpC	19	R	R	R	R	I	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
S. Minessota	11	SIM	AmpC	16	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	I	R	R	R	S	
S. Minessota	10	SIM	AmpC	15	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	I	R	R	R	R	
S. Infantis	13	SIM	AmpC	13	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	I	R	I	R	R	R	I	S	R	R	S	
S. Infantis	5	SIM	AmpC	13	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	I	I	R	R	R	
S. Infantis	4	SIM	AmpC	12	R	R	R	R	I	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	I	I	R	R	S	
S. I.4,5,12:i- (S. Typhimurium monofásica)	23	SIM		10	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	
S. I.4,5,12:i- (S. Typhimurium monofásica)	23	SIM		9	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R		I	S	
S. I.4,5,12:i- (S. Typhimurium monofásica)	11	NÃO		5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R		I	S	
S. Newport	10	SIM	AmpC	16	R	R	R	R	I	S	R	R	R	S	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
S. Oranienburg	10	SIM	AmpC	15	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	I	R	R	R	

3960 R: Resistente, I: Sensibilidade Intermediária, S: Susceptível. AMP (ampicilina), AMOX (amoxicilina), CLINA (cefazolina), CTINA (cefotaxima), CFUR (ceftiofur), CXONA
 3961 (Ceftriaxona), CXIMA (cefotaxima), CDIMA (ceftazidima), GEN (gentamicina), AMI (amicacina), EST (estreptomicina), ANL (ácido nalidixico), PEF (pefloxacina), CIP
 3962 (ciprofloxacina), SUL (sulfonamidas), SULT (sulfametoxazol + trimetoprima), TET (tetraciclina), DOX (doxiciclina), MIN (minociclina), CLO (cloranfenicol), AZI
 3963 (azitromicina).
 AmpC: enzima AmpC.

3964 **QUADRO 10. Classificação dos sorovares de *Salmonella* spp. identificados no estudo de acordo com o perfil de susceptibilidade aos**
 3965 **antimicrobianos, característica de produção de enzimas, sinais clínicos, localização, idade, raça e gênero dos animais. Botucatu, 2021.**

Sorovar	Perfil de susceptibilidade aos Antimicrobianos	Produção de Enzima	Presença de Diarreia	Propriedade	Cidade	Idade (meses)	Raça	Gênero
S. Minnesota	Multirresistente		SIM	Propriedade 23	Porto Feliz	1	MM	F
S.I. 4,5,12:i:- (S. Typhimurium monofásica)	Multirresistente		SIM	Propriedade 23	Porto Feliz	0	MM	F
S.I. 4,5,12:i:- (S. Typhimurium monofásica)	Multirresistente		SIM	Propriedade 23	Porto Feliz	0	MM	M
S. Minnesota	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 10	Jaguariúna	0	MM	F
S. Oranienburg	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 10	Jaguariúna	0	MM	M
S. Newport	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 10	Jaguariúna	2	MM	M
S.I. 4,5,12:i:- (S. Typhimurium monofásica)	Multirresistente		NÃO	Propriedade 11	Monte Mor	1	ARB	F
S. Minnesota	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 11	Monte Mor	0	ARB	F
S. Minnesota	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 11	Monte Mor	0	ARB	M
S. Minnesota	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 11	Monte Mor	0	ARB	F
S. Oranienburg	Pansusceptível		NÃO	Propriedade 11	Monte Mor	1	ARB	F
S. Anatum	Pansusceptível		NÃO	Propriedade 11	Monte Mor	1	ARB	M
S. Anatum	Pansusceptível		NÃO	Propriedade 11	Monte Mor	1	ARB	F
S. Infantis	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 4	Amparo	1	MM	M
S. IIIb 61:c:z35	Pansusceptível		SIM	Propriedade 4	Amparo	1	MM	M
S. Infantis	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 5	Atibaia	4	MM	M
S.I.:O9:-:1,5	Pansusceptível		NÃO	Propriedade 5	Atibaia	5	MM	F
S. Infantis	Multirresistente	AmpC	SIM	Propriedade 15	Espírito Santo do Pinhal	2	MM	F
S. Give	Resistente	ESBL	SIM	Propriedade 2	Bauru	2	QM	M
S. enterica subsp enterica 4,12:d:-	Resistente		NÃO	Propriedade 24	Sorocaba	10	QM	M
S. enterica subsp enterica 4,12:d:-	Pansusceptível		SIM	Propriedade 24	Sorocaba	10	QM	M
S. enterica subsp enterica 6,8:-:-	Resistente		NÃO	Propriedade 1	São Carlos	1	MM	M
S. Infantis	Intermediário		SIM	Propriedade 22	Avaré	2	QM	M
S. Infantis	Intermediário		SIM	Propriedade 22	Avaré	2	QM	F
S. Infantis	Pansusceptível		SIM	Propriedade 25	Quadra	3	QM	M
S. Infantis	Pansusceptível		SIM	Propriedade 12	Santo Antônio da Posse	0	M	M
S. Infantis	Pansusceptível		SIM	Propriedade 12	Santo Antônio da Posse	2	M	M
S. Braenderup	Pansusceptível		SIM	Propriedade 16	Assis	1	QM	M
S. Cerro	Pansusceptível		NÃO	Propriedade 19	Ipuã	1	BH	M
S. Cerro	Pansusceptível		SIM	Propriedade 18	Altinópolis	12	MM	F

3966 MM: Mangalarga Marchador, ARB: Árabe, QM: Quarto de Milha, M: Mangalarga, BH: Brasileiro de Hipismo, F: fêmea, M: macho.

3967 **5.5 Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR)**

3968

3969 Todas técnicas de qPCR empregadas no estudo apresentaram maior número de
3970 amostras classificadas como positivas para *Salmonella* spp. comparadas ao cultivo
3971 bacteriológico de fezes. Observou-se que quando há a análise em conjunto das quatro
3972 técnicas de qPCR realizadas no estudo, 37,87% dos animais que apresentaram qPCR
3973 positivo também apresentaram cultivo bacteriológico positivo e que 3,73% dos animais
3974 que apresentaram qPCR negativo possuíam resultado de cultivo bacteriológico
3975 positivo. Ou seja, 83,33% dos animais que possuíam cultivo positivo também
3976 apresentaram resultado positivo nas técnicas de qPCR e, 16,67% dos animais que foram
3977 positivos no cultivo, apresentaram resultado negativo nas técnicas de qPCR. Os
3978 resultados foram estatisticamente significativos ou seja, um animal que possuiu
3979 resultado positivo nas técnicas de qPCR apresentou maior probabilidade de apresentar
3980 resultado positivo no cultivo bacteriológico quando comparado a um animal que
3981 apresentou resultado negativo nas técnicas de qPCR ($p < 0,0001$).

3982 Além disso, em todas as técnicas de qPCR houve maior detecção de animais
3983 positivos no grupo de animais com diarreia em relação aos animais sem diarreia (Tabela
3984 9). A análise em conjunto das quatro técnicas de qPCR realizadas no estudo
3985 comparando o status de saúde dos animais, revelou que dos animais com diarreia 39%
3986 apresentaram resultados positivos nas técnicas de qPCR e 13% dos animais sem diarreia
3987 foram considerados positivos nas técnicas de qPCR. Houve associação estatisticamente
3988 significativa entre as variáveis, havendo um aumento de 3 vezes na probabilidade de um
3989 animal com diarreia apresentar resultado positivo nas técnicas de qPCR quando
3990 comparado a um animal sem diarreia ($p = < 0,0001$).

3991 Quanto a idade, entre 95,2 % a 100% dos animais detectados como positivos
3992 pelas técnicas de qPCR tinham menos de seis meses de idade, dos quais entre 88,7% a
3993 95,77% classificados como positivos nas técnicas de qPCR possuíam até três meses de
3994 idade (Tabela. 10). Para a análise estatística dos resultados em relação a idade os
3995 animais foram separados em duas categorias sendo a categoria dos mais novos
3996 considerados os animais até 6 meses de idade e os mais velhos animais acima de 6
3997 meses de idade. Dos mais novos, 16,16% foram positivos no cultivo e dos animais da
3998 categoria dos mais velhos 13,85% foram positivos no cultivo. O resultado não foi
3999 significativo ($p = 0,6488$). Os resultados de qPCR total identificaram 34,34% de animais

4000 positivos na categoria dos animais mais jovens e 31,68% de animais positivos na
4001 categoria dos mais velhos. Os resultados também não foram significantes ($p=0,6891$).

4002 A técnica de qPCR SYBR[®] fezes identificou que 25,25% dos animais mais
4003 jovens foram positivos no cultivo e 22,77% dos animais mais velhos foram positivos no
4004 cultivo, os resultados não apresentaram significância estatística ($p=0,6813$). Na técnica
4005 qPCR SYBR[®] tetrionato, 22,22% dos animais mais novos foram positivos no cultivo e
4006 na categoria dos animais mais velhos 22,77% foram positivos no cultivo, sendo assim
4007 os resultados não foram estatisticamente significativos ($p=0,9258$). Os resultados da
4008 qPCR Taqman[®] fezes identificou 22,22% dos animais positivos no cultivo na categoria
4009 dos animais mais jovens e 17,82% de animais positivos no cultivo na categoria dos mais
4010 velhos não havendo diferença estatisticamente significativa ($p=0,4367$). Na técnica de
4011 qPCR Taqman[®] tetrionato, 20,20% dos animais mais jovens foram positivos no
4012 cultivo e 23,76% dos animais mais velhos apresentaram positividade no cultivo sendo
4013 assim, os resultados também não apresentaram significância estatística ($p=0,5434$).
4014 Portanto, a análise estatística por idade não revelou significância estatística entre a idade
4015 dos animais e os resultados de positividade obtidos pelo cultivo bacteriológico e as
4016 técnicas de qPCR empregadas.

4017 Houve um número maior de animais do gênero masculino classificados como
4018 positivos nas técnicas de qPCR quando comparado aos animais pertencentes ao gênero
4019 feminino (Tabela 11).

4020 Em relação a raça, as que apresentaram maior frequência de animais positivos nas
4021 técnicas de qPCR foram Mangalarga Marchador ($n=27$), Quarto de Milha ($n=15$), Árabe
4022 ($n=13$), Brasileiro de Hipismo ($n=8$) e Mangalarga ($n=3$) (Tabela 12).

4023 Das 26 propriedades amostradas em nosso estudo, 18 apresentaram animais
4024 positivos nas técnicas de qPCR. Os haras que apresentaram maior número de animais
4025 positivos nas técnicas de qPCR foram: Propriedade 11 ($n=10$), Propriedade 10 ($n=7$),
4026 Propriedade 23 ($n=5$), Propriedade 25 ($n=5$), Propriedade 2 ($n=4$), Propriedade 13
4027 ($n=4$), Propriedade 22 ($n=4$), Propriedade 26 ($n=4$) (Tabela 13).

4028 A qPCR SYBR[®] direto fezes detectou 48 animais positivos, dos quais 36
4029 animais com diarreia e 12 animais sem diarreia. Ou seja, 36% dos animais com diarreia
4030 apresentaram resultado positivo na qPCR SYBR[®] direto fezes e 12% dos animais sem
4031 diarreia foram positivos. Existiu associação significativa entre as variáveis, havendo
4032 uma probabilidade quase três vezes maior de um animal com diarreia ser positivo na
4033 qPCR SYBR[®] direto fezes quando comparado a um animal sem diarreia ($p<0,0001$).

4034 Quanto ao gênero 22 eram fêmeas e 26 machos. Quanto a idade 17 animais tinham até
4035 30 dias de idade, 12 animais possuíam um mês de idade, nove animais com dois meses
4036 de idade, oito animais com três meses de idade, um animal com quatro meses de idade e
4037 um animal com meses de idade. Os animais seguiram a seguinte distribuição entre as
4038 propriedades: Propriedade 1 (n=4), Propriedade 2 (n=3), Propriedade 4 (n=2),
4039 Propriedade 5 (n=1), Propriedade 10 (n=7), Propriedade 11 (n=9), Propriedade 12
4040 (n=2), Propriedade 13 (n=4), Propriedade 16 (n=1), Propriedade 19 (n=2), Propriedade
4041 22 (n=4), Propriedade 23 (n=4), Propriedade 25 (n=1), Propriedade 26 (n=4).

4042 A qPCR SYBR[®] com tetrionato identificou 45 animais positivos sendo 32
4043 animais com diarreia e 13 animais sem diarreia. Portanto, 32% dos animais com diarreia
4044 foram positivos e 13% dos animais sem diarreia apresentaram resultado positivo. Houve
4045 associação significativa, ocorrendo uma probabilidade 2,5 vezes maior de um animal
4046 com diarreia ser positivo na qPCR SYBR[®] com tetrionato quando comparado a um
4047 animal sem diarreia (p=0,0013). Em relação ao gênero 26 animais eram machos e 19
4048 fêmeas. Quanto a raça 22 animais pertenciam a raça Mangalarga Marchador, nove
4049 animais eram Quarto de Milha, seis animais eram Brasileiro de Hipismo, cinco Árabes
4050 e três animais Mangalarga. No tocante a idade 13 animais possuíam até 30 dias de
4051 idade, 12 animais tinham um mês de idade, dez animais possuíam dois meses de idade,
4052 cinco animais tinham três meses de idade, dois animais tinham quatro meses de idade,
4053 um animal possuía cinco meses de idade e dois animais tinham dez meses de idade. Os
4054 animais possuíam a seguinte distribuição entre as propriedades: Propriedade 1 (n=3),
4055 Propriedade 2 (n=2), Propriedade 4 (n=2), Propriedade 5 (n=2), Propriedade 8 (n=1),
4056 Propriedade 10 (n=6), Propriedade 11 (n=5), Propriedade 12 (n=3), Propriedade 13
4057 (n=3), Propriedade 15 (n=1), Propriedade 16 (n=1), Propriedade 17 (n=1), Propriedade
4058 19 (n=2), Propriedade 22 (n=1), Propriedade 23 (n=5), Propriedade 24 (n=2),
4059 Propriedade 25 (n=1), Propriedade 26 (n=4).

4060 A qPCR Taqman[®] direto fez detectou 40 animais positivos, sendo 31 animais
4061 com diarreia e nove animais sem diarreia. Ou seja, 31% dos animais com diarreia foram
4062 positivos e 9% dos animais sem diarreia possuíam resultado positivo nesta técnica.
4063 Houve associação estatisticamente significativa entre as variáveis, na qual ocorreu uma
4064 probabilidade 3,4 vezes maior de um animal com diarreia ser positivo nesta técnica
4065 quando comparado a um animal sem diarreia (p=0,0001). Quanto ao gênero 17 eram
4066 fêmeas e 23 machos. Em relação a raça, 19 animais pertenciam a raça Mangalarga
4067 Marchador, sete animais da raça Árabe, sete animais Quarto de Milha, cinco Brasileiro

4068 de Hipismo e dois Mangalarga. Quanto a idade 16 animais possuíam até 30 dias de
 4069 idade, nove animais um mês de idade, seis animais com dois meses de idade, seis
 4070 animais com três meses de idade, um animal com quatro meses de idade, um animal
 4071 com cinco meses de idade e um animal com dez meses de idade. A distribuição dos
 4072 animais positivos nas propriedades foi: Propriedade 1 (n=4), Propriedade 2 (n=3),
 4073 Propriedade 4 (n=1), Propriedade 5 (n=1), Propriedade 10 (n=4), Propriedade 11 (n=7),
 4074 Propriedade 12 (n=2), Propriedade 13 (n=4), Propriedade 16 (n=1), Propriedade 19
 4075 (n=1), Propriedade 22 (n=1), Propriedade 23 (n=5), Propriedade 24 (n=1), Propriedade
 4076 25 (n=1). Propriedade 26 (n=4).

4077 A qPCR Taqman® com tetrionato identificou 44 animais positivos, sendo 28
 4078 animais com diarreia e 16 animais sem diarreia. Isto é, 28% dos animais com diarreia
 4079 foram positivos, enquanto 16% dos animais sem diarreia apresentaram resultado
 4080 positivo na técnica. Houve associação estatisticamente significativa, ocorrendo uma
 4081 probabilidade 1,75 vezes maior de um animal com diarreia apresentar resultado positivo
 4082 nesta técnica quando comparado a um animal sem diarreia (p=0,405). Em relação ao
 4083 gênero 24 eram machos e 20 fêmeas. Em relação a raça, 19 animais eram da raça
 4084 Mangalarga Marchador, dez animais Quarto de Milha, sete Brasileiro de Hipismo, cinco
 4085 Árabes e três Mangalarga. Com relação a idade 12 animais possuíam até 30 dias de
 4086 idade, 11 animais tinham um mês de idade, 11 animais tinham dois meses de idade,
 4087 cinco animais com três meses de idade, dois animais com quatro meses de idade, um
 4088 animal com cinco meses de idade e dois animais com 10 meses de idade. A distribuição
 4089 dos animais entre as propriedades foi: Propriedade 1 (n=3), Propriedade 2 (n=2),
 4090 Propriedade 4 (n=2), Propriedade 8 (n=2), Propriedade 10 (n=5), Propriedade 11 (n=5),
 4091 Propriedade 12 (n=3), Propriedade 13 (n=3), Propriedade 15 (n=2), Propriedade 16
 4092 (n=1), Propriedade 17 (n=1), Propriedade 19 (n=3), Propriedade 22 (n=1), Propriedade
 4093 23 (n=2), Propriedade 24 (n=2), Propriedade 25 (n=1), Propriedade 26 (n=4).

4094

4095 **TABELA 9. Distribuição dos números de animais detectados como positivos para**
 4096 ***Salmonella* spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pelo status**
 4097 **de saúde.**

	qPCR SYBR® direto fezes ¹	qPCR SYBR® tetrionato ²	qPCR Taqman® direto fezes ³	qPCR Taqman® tetrionato ⁴
Com diarreia	36	32	31	28
Sem diarreia	12	13	9	16
Total	48	45	40	44

4098 1.qPCR SYBR direto fezes: qPCR pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de
 4099 pré-enriquecimento em tetrionato. 2. qPCR SYBR tetrionato: qPCR pelo método de corante
 4100 fluorescente para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. 3. qPCR Taqman®
 4101 direto Fezes: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de pré-enriquecimento
 4102 em tetrionato. 4. qPCR Taqman® tetrionato: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA*
 4103 com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato.

4104

4105 **TABELA 10. Distribuição dos números de animais detectados como positivos para**
 4106 ***Salmonella* spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pela idade**
 4107 **(meses).**

Idade (meses)	qPCR SYBR® direto fezes ¹	qPCR SYBR® tetrionato ²	qPCR Taqman® direto fezes ³	qPCR Taqman® tetrionato ⁴
0	17 (35,4%)	13 (28,8%)	16 (40%)	12 (27,2%)
1	12 (25%)	12 (26,6%)	9 (22,5%)	11 (25%)
2	9 (18,7%)	10 (22,2%)	6 (15%)	11 (25%)
3	8 (16,67%)	5 (11,1%)	6 (15%)	5 (11,3%)
4	1 (2,08%)	2 (4,44%)	1 (2,5%)	2 (4,5%)
5	1 (2,08%)	1 (2,2%)	1 (2,5%)	1 (2,2%)
10	0	2 (4,4%)	1 (2,5%)	2 (4,5%)
Total	48	45	40	44

4108 1.qPCR SYBR® direto fezes: qPCR pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de
 4109 pré-enriquecimento em tetrionato. 2. qPCR SYBR® tetrionato: qPCR pelo método de corante
 4110 fluorescente para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. 3. qPCR Taqman®
 4111 direto Fezes: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de pré-enriquecimento
 4112 em tetrionato. 4. qPCR Taqman® tetrionato: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA*
 4113 com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato.

4114

4115 **TABELA 11. Distribuição dos números de animais detectados como positivos para**
 4116 ***Salmonella* spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pelo**
 4117 **gênero.**

Gênero	qPCR SYBR® direto fezes ¹	qPCR SYBR® tetrionato ²	qPCR Taqman® direto fezes ³	qPCR Taqman® tetrionato ⁴
Macho	26	26	23	24
Fêmea	22	19	17	20
Total	48	45	40	44

4118 1.qPCR SYBR® direto fezes: qPCR pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de
 4119 pré-enriquecimento em tetrionato. 2. qPCR SYBR® tetrionato: qPCR pelo método de corante
 4120 fluorescente para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. 3. qPCR Taqman®
 4121 direto Fezes: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de pré-enriquecimento
 4122 em tetrionato. 4. qPCR Taqman® tetrionato: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA*
 4123 com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato.

4124 **TABELA 12. Distribuição dos números de animais detectados como positivos para**
 4125 ***Salmonella* spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pela raça.**

Raça	qPCR SYBR® direto fezes ¹	qPCR SYBR® tetrionato ²	qPCR Taqman® direto fezes ³	qPCR Taqman® tetrionato ⁴
Mangalarga Marchador	22	22	19	19
Quarto de Milha	9	9	7	10
Árabe	9	5	7	5
Brasileiro de Hipismo	6	6	5	7
Mangalarga	2	3	2	3
Total	48	45	40	44

4126 1.qPCR SYBR® direto fezes: qPCR pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de
 4127 pré-enriquecimento em tetrionato. 2. qPCR SYBR® tetrionato: qPCR pelo método de corante
 4128 fluorescente para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. 3. qPCR Taqman®
 4129 direto Fezes: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de pré-enriquecimento
 4130 em tetrionato. 4. qPCR Taqman® tetrionato: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA*
 4131 com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. 5. qPCR Total: somatório dos resultados positivos das
 4132 4 técnicas de qPCR em tempo real pelos métodos de corante fluorescente (SYBR® Green) e sonda
 4133 específica (Taqman®) para o gene *invA* com e sem etapa de pré-enriquecimento em tetrionato.

4134

4135 Analisaremos os resultados de cada técnica de qPCR SYBR® e qPCR Taqman®
 4136 com ou sem o emprego de caldo de enriquecimento seletivo de tetrionato,
 4137 comparativamente aos resultados obtidos pela técnica de cultivo bacteriológico de fezes.

4138 A técnica de qPCR SYBR® direto fezes identificou 21 animais dos 30 que foram
 4139 positivos no cultivo bacteriológico. Já a técnica qPCR SYBR® com tetrionato,
 4140 identificou 18 animais que foram positivos no cultivo bacteriológico (Tabela 14).
 4141 Houve concordância nos resultados positivos de 15 animais nas técnicas de qPCR
 4142 SYBR® direto fezes e qPCR SYBR® com tetrionato e que também foram positivos no
 4143 cultivo. A qPCR SYBR® direto fezes identificou 6 animais que foram negativos na
 4144 qPCR SYBR® com tetrionato. Porém, a qPCR SYBR® com tetrionato identificou
 4145 três animais que não haviam sido identificados na qPCR SYBR® direto de fezes.

4146 Os seis animais divergentes e que foram positivos na técnica de qPCR SYBR®
 4147 direto fezes eram cinco com diarreia e um sem diarreia, sendo quatro fêmeas e dois
 4148 machos, quanto a raça um animal era da raça Quarto de Milha, três Árabes e dois
 4149 Mangalarga Marchador. Em relação a idade, três animais tinham até 30 dias de idade,
 4150 dois animais tinham dois meses de idade e um animal tinha um mês de idade.
 4151 Pertenciam a Propriedade 10 (n=1), Propriedade 11 (n=3), Propriedade 13 (n=1) e
 4152 Propriedade 22 (n=1).

4153 **TABELA 13. Distribuição dos números de animais detectados como positivos para**
 4154 ***Salmonella* spp. de acordo com técnica de qPCR empregada, e classificados pela**
 4155 **disposição nas propriedades no momento da coleta da amostra de fezes.**

Propriedades	qPCR SYBR® direto fezes ¹	qPCR SYBR® tetrionato ²	qPCR Taqman® direto fezes ³	qPCR Taqman® tetrionato ⁴
1	4	3	4	3
2	3	2	3	3
4	2	2	1	2
5	1	2	1	0
8	0	1	0	2
10	7	6	4	5
11	9	5	7	5
12	2	3	2	3
13	4	3	4	3
15	0	1	0	2
16	1	1	1	1
17	0	1	0	1
19	2	2	1	3
22	4	1	1	1
23	4	5	5	2
24	0	2	1	2
25	1	1	1	1
26	4	4	4	4
Total	48	45	40	44

4156

4157 1.qPCR SYBR® direto fezes: qPCR pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de
 4158 pré-enriquecimento em tetrionato. 2. qPCR SYBR® tetrionato: qPCR pelo método de corante
 4159 fluorescente para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. 3. qPCR Taqman®
 4160 direto Fezes: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de pré-enriquecimento
 4161 em tetrionato. 4. qPCR Taqman® tetrionato: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA*
 4162 com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato.

4163

4164 Dos três animais identificados na técnica de qPCR SYBR® com tetrionato,
 4165 dois animais pertenciam a Propriedade 24, tinham dez meses de idade, eram da raça
 4166 Quarto de Milha, sendo um com diarreia e o outro sem diarreia. O outro animal era da
 4167 Propriedade 5, macho, com diarreia, da raça Mangalarga Marchador e possuía 4 meses
 4168 de idade.

4169 Tanto a técnica qPCR SYBR® direto fezes quanto a qPCR SYBR® com
 4170 tetrionato identificaram 27 animais que foram negativos no cultivo bacteriológico
 4171 (Tabela 14). As duas técnicas apresentaram concordância na identificação de 17 animais

4172 positivos nas duas técnicas, mas que apresentaram cultivo negativo. Porém, resultados
4173 divergentes foram encontrados em dez animais que foram positivos na qPCR SYBR[®]
4174 direto fezes e negativos na qPCR SYBR[®] com tetrionato e, em 10 animais que foram
4175 positivos na qPCR SYBR[®] com tetrionato e negativos na qPCR SYBR[®] direto fezes.

4176 Os 10 animais que foram positivos na qPCR SYBR[®] direto fezes eram seis
4177 animais com diarreia e quatro sem diarreia. Quanto a idade: menos de 30 dias de vida
4178 (n=5), um mês de idade (n=1), dois meses de idade (n=1), três meses de idade (n=3).
4179 Quanto ao gênero eram quatro fêmeas e seis machos, pertencentes a Propriedade 1
4180 (n=1), Propriedade 2 (n=2), Propriedade 11 (n=2), Propriedade 10 (n=1), Propriedade
4181 22 (n=2).

4182 Os 10 animais que foram positivos na qPCR SYBR[®] com tetrionato eram
4183 cinco sem diarreia e cinco com diarreia. Quanto a raça: Árabe (n=4), Mangalarga
4184 Marchador (n=3), Quarto de Milha (n=2) e Mangalarga (n=1). Em relação a idade cinco
4185 animais possuíam menos de 30 dias, três animais tinham dois meses de idade e dois
4186 animais tinham um mês de idade. Quanto ao gênero eram cinco fêmeas e três machos.
4187 Pertencentes a Propriedade 8 (n=1), Propriedade 11 (n=4), Propriedade 12 (n=1),
4188 Propriedade 13 (n=1), Propriedade 15 (n=1), Propriedade 17 (n=1), Propriedade 23
4189 (n=1).

4190 A técnica de qPCR Taqman[®] direto das fezes identificou 19 animais que foram
4191 positivos no cultivo bacteriológico, enquanto a qPCR Taqman[®] com tetrionato
4192 identificou 18 animais que foram positivos no cultivo bacteriológico (Tabela 14).

4193 A qPCR Taqman[®] direto fezes identificou dois animais que não apresentaram
4194 resultado positivo na qPCR Taqman[®] com tetrionato. Enquanto, a qPCR Taqman[®]
4195 com tetrionato identificou dois animais que não foram positivos na qPCR Taqman[®]
4196 direto fezes.

4197 Os dois animais divergentes na qPCR Taqman[®] direto fezes pertenciam a duas
4198 propriedades: Propriedade 13: animal com diarreia, até 30 dias de idade, macho, da raça
4199 Mangalarga Marchador e Propriedade 11: animal com diarreia, fêmea, com dois meses
4200 de idade da raça Árabe. Os dois animais positivos na qPCR Taqman[®] com tetrionato
4201 eram um animal da Propriedade 5: animal com diarreia, macho, da raça Mangalarga
4202 Marchador, com quatro meses de idade e o outro animal da Propriedade 24: sem
4203 diarreia, macho, da raça Quarto de Milha com dez meses de idade.

4204 A qPCR Taqman[®] direto fezes identificou 21 animais que foram negativos no
4205 cultivo bacteriológico e a qPCR Taqman[®] com tetrionato identificou 26 animais que

4206 tiveram resultado negativo no cultivo bacteriológico (Tabela 14). Houve concordância
4207 nos resultados de 14 animais que foram identificados como positivos em ambas as
4208 técnicas e que foram negativos no cultivo bacteriológico. Resultados divergentes foram
4209 encontrados em seis animais que foram positivos na qPCR Taqman[®] direto fezes e
4210 negativos na qPCR Taqman[®] com tetrionato e, em 12 animais que foram positivos na
4211 qPCR Taqman[®] com tetrionato e que não foram identificados na qPCR Taqman[®]
4212 direto fezes.

4213 Os seis animais positivos na qPCR Taqman[®] direto fezes eram quatro com
4214 diarreia e dois sem diarreia, três fêmeas e três machos, quatro animais de até 30 dias de
4215 idade, um animal com três meses de idade e um animal com um mês de idade. Quanto a
4216 raça dois eram Mangalarga Marchador, três Árabes e um Quarto de Milha. Pertencentes
4217 a Propriedade 1 (n=1), Propriedade 2 (n=1), Propriedade 11 (n=3), Propriedade 23
4218 (n=1).

4219 Os 12 animais detectados pela qPCR Taqman[®] com tetrionato eram oito sem
4220 diarreia e quatro com diarreia. Quanto a raça: Mangalarga Marchador (n=4), Quarto de
4221 Milha (3) Brasileiro de Hipismo (n=2), Árabe (n=2) e Mangalarga (n=1). Em relação a
4222 idade: menos de 30 dias (n=3), 1 mês de idade (n=4), 2 meses de idade (n=5).
4223 Pertencentes a Propriedade 4 (n=1), Propriedade 8 (n=2), Propriedade 10 (n=1),
4224 Propriedade 11 (n=2), Propriedade 12 (n=1), Propriedade 15 (n=2), Propriedade 17
4225 (n=1), Propriedade 19 (n=2).

4226 Entre as técnicas qPCR SYBR[®] direto fezes e qPCR Taqman[®] direto fezes,
4227 houve concordância nos resultados de 17 animais que também apresentaram resultado
4228 positivo no cultivo bacteriológico. A qPCR SYBR[®] direto fezes identificou quatro
4229 animais (animais n^o: 2,59,114,157) que não foram determinados na qPCR Taqman[®]
4230 direto fezes. E a qPCR Taqman[®] direto fezes identificou dois (animais n^o: 56,168)
4231 animais que não foram constatados na qPCR SYBR[®] Fezes.

4232 Os quatro animais divergentes que foram positivos na técnica de qPCR SYBR[®]
4233 direto fezes eram três fêmeas e um macho. Quanto a idade, dois animais possuíam até
4234 30 dias de idade, um animal tinha um mês de idade e um animal com dois meses de
4235 idade, sendo dois Árabes, um Mangalarga Marchador e um Quarto de Milha.
4236 Pertencentes a Propriedade 11 (n=2), Propriedade 10 (n=1) e Propriedade 22 (n=1). Os
4237 dois animais que apresentaram resultados positivos na técnica de qPCR Taqman[®] direto
4238 fezes pertenciam a Propriedade 24: animal com diarreia, macho, Quarto de Milha com

4239 dez meses de idade. Propriedade 2: animal com diarreia, macho, da raça Quarto de
4240 Milha, com dois meses de idade.

4241 A qPCR SYBR[®] com tetrionato e a qPCR Taqman[®] com tetrionato
4242 apresentaram concordância nos resultados de 17 animais que exibiram resultado
4243 positivo no cultivo bacteriológico. A qPCR SYBR[®] com tetrionato identificou um
4244 animal pertencente a Propriedade 23, fêmea, com diarreia, Mangalarga Marchador com
4245 até 30 dias de idade, que não foi constatado na qPCR Taqman[®] com tetrionato. Assim
4246 como a qPCR Taqman[®] com tetrionato identificou um animal da Propriedade 2,
4247 macho, Quarto de Milha, com diarreia com dois meses de idade, que não foi
4248 determinado como positivo na qPCR SYBR[®] com tetrionato.

4249 A qPCR SYBR[®] direto fezes e qPCR Taqman[®] direto fezes apresentaram
4250 concordância no resultado de 18 animais que obtiveram resultado positivo em ambas as
4251 técnicas e resultados negativos no cultivo bacteriológico. A qPCR SYBR[®] direto fezes
4252 identificou nove animais que não foram detectados na qPCR Taqman[®] direto fezes.
4253 Sendo seis animais com diarreia e três sem diarreia, quatro fêmeas e cinco machos.
4254 Quanto a raça, quatro animais eram Mangalarga Marchador, três animais da raça Quarto
4255 de Milha, um Árabe e um Brasileiro de Hipismo. Em relação a idade dois animais
4256 tinham até 30 dias de idade, três animais tinham um mês de idade (n=3), três animais
4257 tinham dois meses de idade (n=3) e dois animais possuíam três meses de idade (n=2).

4258 A qPCR Taqman[®] direto fezes identificou dois animais que não foram
4259 detectados na qPCR SYBR[®] direto fezes, sendo um animal pertencente a Propriedade
4260 23, com diarreia, fêmea, Mangalarga Marchador, com até 30 dias de idade. E o outro
4261 animal da Propriedade 11, sem diarreia, macho, Árabe, com até 30 dias de idade.

4262 As duas técnicas qPCR SYBR[®] com tetrionato e a qPCR Taqman[®] com
4263 tetrionato identificaram 21 animais que obtiveram resultado positivo em ambas as
4264 técnicas e resultados negativos no cultivo bacteriológico. A qPCR SYBR[®] com
4265 tetrionato identificou seis animais que não foram constatados na qPCR Taqman[®] com
4266 tetrionato, sendo todos animais com diarreia, três fêmeas e três machos. Quanto a
4267 raça, quatro animais eram Mangalarga Marchador, um Brasileiro de Hipismo e um
4268 Árabe. Em relação a idade, três animais possuíam até 30 dias de idade, dois animais
4269 com um mês de idade e um animal com dois meses de idade. Pertencentes a cinco
4270 Propriedades: Propriedade 1 (n=1), Propriedade 10 (n=1), Propriedade 11 (n=1),
4271 Propriedade 19 (n=1), Propriedade 23 (n=2). A qPCR Taqman[®] com tetrionato por sua
4272 vez, identificou cinco animais que não foram determinados na qPCR SYBR[®] com

4273 tetracionato. Sendo três animais sem diarreia e dois com diarreia, quatro fêmeas e um
4274 macho. Em relação a raça, dois animais eram da raça Brasileiro de Hipismo, dois
4275 Mangalarga Marchador e um Quarto de Milha. Em relação a idade, dois animais tinham
4276 até 30 dias de idade, um animal com um mês de idade, dois animais com dois meses de
4277 idade. Pertencentes a três propriedades: Propriedade 1 (n=1), Propriedade 8 (n=1),
4278 Propriedade 15 (n=1), Propriedade 19 (n=2).

4279 Resultados de qPCR negativo e cultivo bacteriológico positivo foram
4280 encontrados nas quatro técnicas, porém a técnica qPCR[®] direto fez foi a que obteve
4281 menores resultados (n=9) comparada as demais técnicas de qPCR SYBR[®] com
4282 tetracionato (n=12), qPCR Taqman[®] direto fez (n=11) e qPCR Taqman[®] com
4283 tetracionato (n=12) (Tabela 14).

4284 Os nove animais negativos na qPCR SYBR[®] direto fez e positivos no cultivo
4285 bacteriológico eram cinco animais com diarreia e quatro sem diarreia, sendo quatro
4286 fêmeas e cinco machos. Quanto a raça, dois animais eram Mangalarga Marchador, três
4287 animais Quarto de Milha e 4 animais da raça Árabe. Quanto a idade um animal tinha até
4288 30 dias de idade, três animais possuíam um mês de idade, um animal tinha dois meses
4289 de idade, um animal com quatro meses de idade, dois animais com dez meses de idade e
4290 um animal possuía 12 meses de idade. Sendo assim distribuídos entre as Propriedades:
4291 Propriedade 2 (n=1), Propriedade 5 (n=1), Propriedade 11 (n=4), Propriedade 18 (n=1),
4292 Propriedade 24 (n=2) (Tabela 15).

4293 Já os 12 animais negativos na qPCR SYBR[®] com tetracionato e positivos no
4294 cultivo bacteriológico eram oito animais com diarreia e quatro animais sem diarreia,
4295 sendo quatro machos e oito fêmeas. Quanto a raça, sete animais eram da raça Árabe,
4296 três Mangalarga Marchador e dois Quarto de Milha. Em relação a idade quatro animais
4297 tinham até 30 dias de idade, quatro animais com um mês de idade, três animais com
4298 dois meses de idade e um animal com 12 meses de idade. Os animais apresentaram a
4299 seguinte distribuição entre as Propriedades: Propriedade 2 (n=1), Propriedade 10 (n=1),
4300 Propriedade 11 (n=7), Propriedade 13 (n=1), Propriedade 18 (n=1), Propriedade 22
4301 (n=1) (Tabela 15).

4302 Os 11 animais negativos na qPCR Taqman[®] direto fez e positivos no cultivo
4303 bacteriológico eram seis com diarreia e cinco sem diarreia, sendo quatro machos sete
4304 fêmeas. Quanto a raça, dois eram da raça Quarto de Milha, três Mangalarga Marchador,
4305 seis Árabes. Em relação a faixa etária três animais tinham até 30 dias de idade, quatro
4306 animais possuíam um mês de idade, um animal tinha dois meses de idade, um animal

4307 tinha dez meses de idade e um animal com 12 meses de idade. A distribuição dos
4308 animais entre as propriedades foi: Propriedade 5 (n=1), Propriedade 10 (n=1),
4309 Propriedade 11 (n=6), Propriedade 18 (n=1), Propriedade 22 (n=1), Propriedade 24
4310 (n=1) (Tabela 15).

4311 Os 12 animais negativos na qPCR Taqman[®] com tetrionato e positivos no cultivo
4312 bacteriológico eram oito com diarreia e quatro sem diarreia, sendo três machos e nove
4313 fêmeas. Em relação a raça, sete animais eram Árabes, quatro animais Mangalarga
4314 Marchador e um animal da raça Quarto de Milha. Com relação a faixa etária cinco
4315 animais tinham até 30 dias de idade, quatro animais tinham um mês de idade, dois
4316 animais com dois meses de idade e um animal possuía 12 meses de idade. A
4317 distribuição dos animais nas propriedades foi: Propriedade 11 (n=7), Propriedade 13
4318 (n=1), Propriedade 18 (n=1), Propriedade 22 (n=1), Propriedade 23 (n=1) (Tabela 15).

4319 A distribuição dos sorovares não identificados, de acordo com a técnica de
4320 qPCR utilizada pode ser visualizada na Tabela 16.

4321 A distribuição dos animais positivos para *Salmonella* spp. de acordo com a
4322 técnica utilizada para diagnóstico e classificação segundo a administração de
4323 antimicrobianos em período anterior a coleta das amostras pode ser visualizada na
4324 Tabela 17. Houve superior detecção de *Salmonella* spp. em animais tratados com
4325 antimicrobianos em período anterior a amostragem na técnica de qPCR Taqman[®] fezes
4326 e qPCR SYBR[®] tetrionato. Na técnica de qPCR Taqman[®] tetrionato houve superior
4327 detecção de *Salmonella* spp. em animais que não receberam antibioticoterapia.
4328 Enquanto que na técnica de qPCR SYBR[®] direto fezes o mesmo número de animais
4329 tratados e não tratados com antimicrobianos foi identificado.

4330

4331

4332

4333

4334

4335

4336

4337

4338

4339

4340 **TABELA 14. Distribuição dos números de animais classificados de acordo com os**
 4341 **resultados obtidos nas técnicas de qPCR e cultivo bacteriológico.**
 4342

	Cultivo Bacteriológico (+)	Cultivo Bacteriológico (-)	Total
qPCR total (+)	25	41	66
qPCR total (-)	5	129	134
qPCR SYBR® direto fezes (+)	21	27	48
qPCR SYBR® direto fezes (-)	9	143	152
qPCR SYBR® tetrionato (+)	18	27	45
qPCR SYBR® tetrionato (-)	12	143	155
qPCR Taqman® direto fezes (+)	19	21	40
qPCR Taqman® direto fezes (-)	11	149	160
qPCR Taqman® tetrionato (+)	18	26	44
qPCR Taqman® tetrionato (-)	12	144	156

4343 **qPCR total (+):** somatório dos resultados positivos das 4 técnicas de qPCR pelos métodos de corante
 4344 fluorescente (SYBR® Green) e sonda específica (Taqman®) para o gene *invA* com e sem etapa de pré-
 4345 enriquecimento em tetrionato. **qPCR total (-):** somatório dos resultados negativos das 4 técnicas de
 4346 qPCR pelos métodos de corante fluorescente (SYBR® Green) e sonda específica (Taqman®) para o gene
 4347 *invA* com e sem etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. **qPCR SYBR® direto fezes (+):** resultados
 4348 positivos na técnica de qPCR pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de pré-
 4349 enriquecimento em tetrionato. **qPCR SYBR® direto fezes (-):** resultados negativos na técnica de qPCR
 4350 pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato.
 4351 **qPCR SYBR® tetrionato (+):** resultados positivos na técnica de qPCR pelo método de corante
 4352 fluorescente para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. **qPCR SYBR®**
 4353 **tetrionato (-):** resultados negativos na técnica de qPCR pelo método de corante fluorescente para o
 4354 gene *InvA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. **qPCR Taqman® direto fezes (+):**
 4355 resultados positivos na técnica de qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de
 4356 pré-enriquecimento em tetrionato. **qPCR Taqman® direto fezes (-):** resultados negativos na técnica de
 4357 qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de pré-enriquecimento em
 4358 tetrionato. **qPCR Taqman® tetrionato (+):** resultados positivos na técnica de qPCR pelo método de
 4359 sonda específica para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. **qPCR Taqman®**
 4360 **tetrionato (-):** resultados negativos na técnica de qPCR pelo método de sonda específica para o gene
 4361 *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. **Cultivo bacteriológico (+):** resultados positivos
 4362 para *Salmonella* spp. no cultivo bacteriológico de fezes. **Cultivo bacteriológico (-):** resultados negativos
 4363 para *Salmonella* spp. no cultivo bacteriológico de fezes. **Total:** somatório dos resultados positivos e
 4364 negativos para *Salmonella* spp. no cultivo bacteriológico de fezes.
 4365

4366 **TABELA 15. Características epidemiológicas dos animais identificados como negativos**
 4367 **na técnica de qPCR e que obtiveram resultado positivo para *Salmonella* spp. no cultivo**
 4368 **bacteriológico. Botucatu,2021**

Propriedade	Idade (meses)	Raça	Gênero	Status Saúde	Resultado Negativo qPCR	Sorovar
22	2	QM	M	Com diarreia	SYBR® tetrionato Taqman® direto fezes Taqman® tetrionato	S. Infantis
23	0	MM	F	Com diarreia	Taqman® tetrionato	S.I. 4,5,12:i:-
18	12	MM	F	Com diarreia	SYBR® direto fezes, SYBR® tetrionato Taqman® direto fezes Taqman tetrionato	S. Cerro
2	2	QM	M	Com diarreia	SYBR® direto fezes, SYBR® tetrionato	S. Give
10	0	MM	F	Com diarreia	SYBR® tetrionato Taqman® tetrionato Taqman® direto fezes	S. Minnesota
13	2	MM	F	Com diarreia	SYBR® tetrionato Taqman® tetrionato	S. Infantis
11	0	ARB	F	Com diarreia	SYBR® direto fezes SYBR® tetrionato Taqman® direto fezes Taqman® tetrionato	S. Minnesota
11	1	ARB	F	Sem diarreia	SYBR® direto fezes SYBR® tetrionato Taqman® direto fezes Taqman® tetrionato	S.I. 4,5,12:i:-
11	1	ARB	F	Sem diarreia	SYBR® tetrionato Taqman® direto fezes Taqman® tetrionato	S. Oranienburg
11	1	ARB	M	Sem diarreia	SYBR® direto fezes SYBR® tetrionato Taqman® direto fezes Taqman® tetrionato	S. Anatum
11	1	ARB	F	Sem diarreia	SYBR® direto fezes SYBR® tetrionato Taqman® direto fezes Taqman® tetrionato	S. Anatum
5	4	MM	M	Com diarreia	SYBR® direto fezes Taqman® direto fezes	S. Infantis
11	0	ARB	F	Com diarreia	SYBR® tetrionato Taqman® direto fezes Taqman® tetrionato	S. Minnesota
11	0	ARB	M	Com diarreia	SYBR® tetrionato Taqman® tetrionato	S. Minnesota
24	10	QM	M	Com diarreia	SYBR® direto fezes	S. enterica subsp enterica 4,12:d:-
24	10	QM	M	Com diarreia	SYBR® direto fezes Taqman® direto fezes	S. enterica subsp enterica 4,12:d:-

4369 QM: Quarto de Milha, ARB: Árabe, MM: Mangalarga Marchador. F: Fêmea, M: Macho

4370

4371 **TABELA 16. Distribuição dos sorovares classificados como negativos para *Salmonella***
 4372 **spp. de acordo com técnica de qPCR empregada. Botucatu, 2021.**

qPCR SYBR® direto fezes ¹	qPCR SYBR® tetrionato ²	qPCR Taqman® direto fezes ³	qPCR Taqman® tetrionato ⁴
S. Cerro	S. Cerro	S. Cerro	S. Cerro
S. Give	S. Give	-	-
S. Minnesota	S. Minnesota	S. Minnesota	S. Minnesota
S.l. 4,5,12:i:-	S.l. 4,5,12:i:-	S.l. 4,5,12:i:-	S.l. 4,5,12:i:-
S. Anatum	S. Anatum	S. Anatum	S. Anatum
S. Infantis	S. Infantis	S. Infantis	S. Infantis
S. enterica subsp enterica 4,12:d:-	-	S. enterica subsp enterica 4,12:d:-	-
	S. Oranienburg	S. Oranienburg	S. Oranienburg

4373

4374 1.qPCR SYBR® direto fezes: qPCR pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de
 4375 pré-enriquecimento em tetrionato. 2. qPCR SYBR® tetrionato: qPCR pelo método de corante
 4376 fluorescente para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. 3. qPCR Taqman®
 4377 direto Fezes: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de pré-enriquecimento
 4378 em tetrionato. 4. qPCR Taqman® tetrionato: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA*
 4379 com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato.

4380

4381 **TABELA 17. Distribuição dos números de animais detectados como positivos para**
 4382 ***Salmonella* spp. de acordo com a técnica de qPCR empregada no diagnóstico e**
 4383 **classificados segundo a instituição de antibioticoterapia em momento anterior a coleta**
 4384 **da amostra.**

4385

Antibioticoterapia	qPCR SYBR® direto fezes ¹	qPCR SYBR® tetrionato ²	qPCR Taqman® direto fezes ³	qPCR Taqman® tetrionato ⁴	Cultivo Bacteriológico
Tratados	24 (50%)	23 (51,1%)	22 (55%)	20 (45,45%)	16 (53,3%)
Não Tratados	24 (50%)	22 (48,9)	18 (45%)	24 (54,54%)	14 (46,7%)
Total	48	45	40	44	30

4386

4387 1.qPCR SYBR® direto fezes: qPCR pelo método de corante fluorescente para o gene *invA* sem a etapa de
 4388 pré-enriquecimento em tetrionato. 2. qPCR SYBR® tetrionato: qPCR pelo método de corante
 4389 fluorescente para o gene *invA* com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato. 3. qPCR Taqman®
 4390 direto Fezes: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA* sem etapa de pré-enriquecimento
 4391 em tetrionato. 4. qPCR Taqman® tetrionato: qPCR pelo método de sonda específica para o gene *invA*
 4392 com a etapa de pré-enriquecimento em tetrionato.

4393

4394

4395

4396 6. DISCUSSÃO

4397

4398 Os resultados do cultivo bacteriológico identificaram 15% de isolamento de
4399 *Salmonella* spp. nas fezes dos animais amostrados. Estudos realizados somente com a
4400 participação de potros com diarreia identificaram isolamento de *Salmonella* spp. em
4401 12% dos animais avaliados nos Estados Unidos (Frederick et al., 2009) e de 17,9% no
4402 Paquistão (Haq et al., 2018). Resultados inferiores foram encontrados em estudos
4403 realizados em potros com e sem diarreia no Reino Unido com 0,1% (Browning et al.,
4404 1991) e 3% (Netherwood et al., 1996) de isolamento, Trinidad e Tobago
4405 com 4,4% (Harris et al., 2012) e Estados Unidos com 8% (Slovis et al., 2014) de
4406 isolamento. No Iraque houve 3,1% de isolamento de *Salmonella* spp. em equinos de
4407 idades variadas com e sem diarreia (Hamzah et al., 2013). Resultados superiores foram
4408 encontrados no Brasil com 25% de isolamento em potros com diarreia (Olivo et al.,
4409 2016).

4410 No nosso estudo houve maior frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em
4411 animais com diarreia (21%) quando comparado aos animais sem diarreia (9%), o que foi
4412 observado em outros estudos conduzidos no Iraque com 33,3% de isolamento de
4413 *Salmonella* spp. em animais com diarreia e 2% em potros saudáveis (Hamzah et al.,
4414 2013), no Brasil com 25% de isolamento em animais doentes e 7% em animais sadios
4415 (Olivo et al., 2016), Estados Unidos com 8% de isolamento dos potros com diarreia e
4416 0% de isolamento em equinos sem diarreia (Slovis et al., 2014), Reino Unido que
4417 identificou 2% de isolamento em animais com diarreia e 1% de isolamento de
4418 *Salmonella* spp. em potros sadios que não possuíam contato com potros diarreicos
4419 (Netherwood et al., 1996).

4420 Características fenotípicas de resistência aos antimicrobianos foram observadas
4421 em 53,3% dos isolados do presente estudo. Sendo verificada elevada resistência aos
4422 antimicrobianos das classes dos β -lactâmicos, sulfonamidas, anfenicóis, tetraciclina e
4423 aminoglicosídeos corroborando com os últimos painéis relativos a utilização mundial de
4424 antimicrobianos que evidenciam as tetraciclina, penicilina, macrolídeos,
4425 sulfonamidas, aminoglicosídeos e anfenicóis como sendo os principais antimicrobianos
4426 utilizados em animais de produção e, a presença de elevada resistência aos
4427 antimicrobianos comumente utilizados para o tratamento de infecções clínicas nesses
4428 animais (OIE, 2018, USDA APHIS- 2019, ESVAC, 2019).

4429 Outros autores demonstraram a tendência de aumento de resistência aos
4430 fármacos comumente utilizados no tratamento das infecções por *Salmonella* spp. em
4431 equinos (Leon et al., 2018).

4432 Os equinos apresentam maior probabilidade de adquirirem isolados de
4433 *Salmonella* spp. com características de resistência aos antimicrobianos (Rivera et al.,
4434 2021). Sendo assim, maiores índices de resistência nesta espécie podem ser observados,
4435 o que foi confirmado em nosso estudo. Resultados semelhantes também foram
4436 encontrados em equinos hospitalizados nos Estados Unidos (Dallap Schaer et al., 2010;
4437 Cummings et al., 2016; Leon et al., 2018), Holanda (Duijkeren et al., 2002), Austrália
4438 (Amavisit et al., 2001) e Chile (Soza-Ossandón et al., 2020; Rivera et al., 2021) que
4439 revelaram elevada resistência aos antimicrobianos das classes dos β - lactâmicos,
4440 aminoglicosídeos, sulfonamidas, tetraciclina, anfenicóis e quinolonas. Assim como em
4441 equinos doentes no Brasil (Ferreira et al., 2019; Oliveira et al., 2019), Estados Unidos
4442 (Donahue et al., 1986; Dargatz et al., 2004) e no Paquistão (Haq et al., 2018) que
4443 revelaram elevada resistência aos antimicrobianos das classes dos β - lactâmicos,
4444 aminoglicosídeos, sulfonamidas, quinolonas, tetraciclina, lincosamidas e
4445 fluorquinolonas.

4446 Segundo a Organização Mundial da Saúde e a Agência de Medicina Europeia
4447 (EMA), as cefalosporinas de 3^a e 4^a geração, polimixinas, quinolonas e fluorquinolonas
4448 são listadas como antimicrobianos criticamente importantes em medicina humana e a
4449 utilização em animais deve ser restringida a fim de se mitigar os riscos à saúde pública.

4450 Assim como no presente estudo, resistência às cefalosporinas de terceira geração
4451 também foram descritas em isolados de equinos com Salmonelose (Hartmann et al.,
4452 1995; Dargatz et al., 2004; Ward et al., 2005; Dunowska et al., 2007; Singh et al., 2007;
4453 Singh et al., 2009; Dallap Schaer et al., 2010; Cummings et al., 2016; Haq et al., 2018).

4454 Pansusceptibilidade foi encontrada em 40% dos nossos isolados, resultado
4455 semelhante ao estudo conduzido nos Estados Unidos que encontrou 40,9% de isolados
4456 de *Salmonella* spp. pansusceptíveis em equinos (Cummings et al., 2016). Resultados
4457 superiores de pansusceptibilidade foram encontrados em estudos conduzidos no Reino
4458 Unido que revelaram 55% a 77% (Martelli et al., 2019), nos Estados Unidos com 85,9%
4459 (Leon et al., 2018). Porém, resultados inferiores de pansusceptibilidade foram descritos
4460 na Holanda com 32% (Duijkeren et al., 2002) e no Chile, com apenas 9% de isolados
4461 pansusceptíveis (Soza-Ossandón et al., 2020).

4462 Todos os 30 isolados de *Salmonella* spp. foram 100% susceptíveis aos
4463 antimicrobianos aztreonam e imipenem. Estudos em equinos também demonstraram
4464 elevada sensibilidade dos isolados de *Salmonella* spp. ao imipenem (Dargatz et al.,
4465 2004; Dallap Schaer et al., 2010; Cummings et al., 2016).

4466 Esse resultado é importante uma vez que os carbapenêmicos são os fármacos de
4467 eleição no tratamento de casos graves de infecções causadas por cepas multirresistentes,
4468 porém representam hoje as últimas opções para tratamento, devendo seu uso ser restrito
4469 ao ambiente hospitalar. A ausência de novos antimicrobianos contra as bactérias gram-
4470 negativas e o surgimento de mecanismos de resistência que eliminam as opções
4471 terapêuticas disponíveis para o tratamento das doenças infecciosas causadas por
4472 enterobactérias são as causas de um grave problema de saúde pública no âmbito
4473 mundial, sendo assim, é fundamental ressaltar, que o uso de qualquer antimicrobiano
4474 deve ser racional, dando-se preferência, sempre que possível, a fármacos com espectro
4475 de ação mais restrito, que sejam eficazes contra os patógenos responsáveis pela infecção
4476 (AVMA, 2020).

4477 O estudo identificou 13 isolados multirresistentes (43,3%). Resultado
4478 semelhante em equinos foi encontrado no Chile com 45,45% de isolados
4479 multirresistentes (Soza-Ossandón et al., 2020). Resultados superiores de
4480 multirresistência na espécie equina foram encontrados nos Estados Unidos com 57% de
4481 isolados multirresistentes (Cummings et al., 2016) e na Índia com 97% (Sing et al.,
4482 2007) e 75,7% de multirresistência (Singh et al., 2009). Resultados inferiores em
4483 equinos foram encontrados na Holanda com 13% de multirresistência (Duijkeren et al.,
4484 2002) e nos Estados Unidos onde 10,2% dos isolados foram multirresistentes (Leon et
4485 al., 2018).

4486 Dos isolados multirresistentes do presente estudo, 57,14% (12/21) foram
4487 encontrados em animais com diarreia. Resultado semelhante ao encontrado em estudo
4488 que relevou a presença de 57% e 45,45% de isolados de *Salmonella* spp.
4489 multirresistentes em equinos hospitalizados nos EUA (Cummings et al., 2016) e no
4490 Chile (Soza-Ossodón et al., 2020), respectivamente.

4491 Embora os isolados multirresistentes sejam comumente relatados em animais
4492 doentes e hospitalizados, eles também podem ocorrer em menor frequência em animais
4493 sadios (Donahue et al., 1986; Schott et al., 2001; Ward et al., 2005; Dallap et al., 2010;
4494 Cummings et al., 20116).

4495 O presente estudo identificou 1 isolado (11,11% n=9) de animal sadio
4496 multirresistente pertencente ao sorovar *S.I. 4,5,12:i:-*. Estudos realizados na Índia
4497 evidenciaram taxas mais elevadas de 97% (Singh et al., 2007) e 75,7% (Singh et al.,
4498 2009) de isolados multirresistentes em animais sadios. Porém, estudo amplo realizado
4499 nos Estados Unidos demonstrou menos de 5% dos isolados de *Salmonella* spp. da
4500 população geral de equinos sadios resistentes aos antimicrobianos testados (Traub-
4501 Dargatz et al., 2000).

4502 Outro resultado importante, foi o encontro de 33,3% isolados de *Salmonella* spp.
4503 detentores de genes produtores de enzimas β -lactamases, sendo 1 isolado (3,33%)
4504 detentor do gene *bla_{CTX-M}* produtor de β -Lactamases de espectro estendido (ESBL) e 9
4505 isolados (30%) detentores do gene *bla_{CMY-2}*, produtores de β -Lactamases do tipo AmpC.
4506 Embora a produção de ESBL e AmpC seja encontrada em todo o mundo, informações
4507 sobre a produção dessas enzimas por *Salmonella* spp. em equinos são escassas, sendo
4508 obtidas de animais hospitalizados ou clinicamente doentes (Ward et al., 2005; Weese et
4509 al., 2009; Dierikx et al., 2012; Leon et al., 2018; Dor et al., 2020).

4510 Todos os isolados produtores de β -lactamases foram originários de animais que
4511 apresentavam diarreia. Além do sorovar *S. Newport* já descrito em equinos como
4512 detentor do gene *bla_{CMY-2}*, encontramos também outros sorovares que apresentaram
4513 genes de resistência que não possuem descrição em equinos, como *S. Give*, *S.*
4514 *Minnesota*; *S. Infantis* e *S. Oranienburg* (Rankin et al., 2005; Ward et al., 2005; Dallap
4515 Schaer et al., 2010; Dominguez et al., 2015; Leon et al., 2018). No Brasil, há apenas
4516 relatos de *Salmonella* spp. produtoras de AmpC e ESBL em ambiente hospitalar, seres
4517 humanos e alimentos, principalmente carne de frango (Botelho et al. 2015; Ziech et al.,
4518 2016; Souza et al., 2020). Desta forma, embora a produção de AmpC e ESBL tenha sido
4519 encontrada em seres humanos e animais em diversos países, isolados em equinos são
4520 escassos e não haviam sido previamente reportados em nosso país.

4521 A presença de β -Lactamases do tipo AmpC está frequentemente associada a
4522 multirresistência (Bauernfeind et al. 1996, Thomson 2001, Nordmann & Mammeri
4523 2007, Al-Bayssari et al. 2015; Santiago et al., 2016) o que foi confirmado em nosso
4524 estudo no qual 100% dos isolados produtores de β -Lactamases do tipo AmpC foram
4525 multirresistentes.

4526 Os resultados demonstraram que 90% dos isolados produtores de β -Lactamases
4527 foram encontrados em animais com até 2 meses de idade, sendo 50% dos isolados
4528 encontrados em animais com até 30 dias de idade, demonstrando elevada

4529 susceptibilidade dessa categoria à salmonelose, destacando a gravidade clínica desse
4530 patógeno na saúde dos potros, assim como observado no estudo realizado em Israel
4531 (Dor et al., 2020). Podendo a presença desses genes de resistência resultar em falha no
4532 tratamento (Leon et al., 2018).

4533 O uso prévio de antimicrobianos é implicado como um fator de risco para o
4534 aumento de susceptibilidade dos animais as infecções por *Salmonella* spp. (Ikeda e
4535 Hirsch, 1985; Traub-Dargatz e Dargatz, 2009). Em nosso estudo, 59% dos animais com
4536 diarreia foram tratados com antimicrobianos de forma empírica antes da coleta das
4537 amostras, sendo o maior índice de resistência aos antimicrobianos encontrado nesta
4538 categoria. A pressão de seleção causada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos é
4539 uma das principais causas da emergência e disseminação de multirresistência (Weese et
4540 al., 2009 Traub-Dargatz e Dargatz, 2009).

4541 A presença de maiores índices de resistência em animais previamente tratados
4542 com antimicrobianos demonstra a importância da antibioticoterapia no processo de
4543 pressão de seleção exercida na população de enterobactérias enfatizando a relevância do
4544 uso racional de antimicrobianos (Ikeda e Hirsch, 1985; Traub-Dargatz e Dargatz, 2009).

4545 Há mais relatos de ocorrência de multirresistência entre os sorovares causadores
4546 de doenças clínicas (Cummings et al.,2016). Sorovares resistentes aos antimicrobianos
4547 causam infecções mais severas, aumentam o risco de falha terapêutica e limitam as
4548 opções de tratamento. Fato que aumenta o risco de insucesso no tratamento dos animais
4549 e seres humanos, representando grande preocupação para a saúde pública, uma vez que
4550 grande parte dos isolados de *Salmonella* spp. multirresistentes em seres humanos
4551 apresentam origem animal (Freitas Neto et al., 2010; Cummings et al., 2016; Pan et al.,
4552 2018; Naberhaus et al., 2019; Soza-Ossandón et al.,2020; Rivera et al., 2021).

4553 A infecção por um isolado resistente em equinos é mais provável de resultar em
4554 hospitalização e morte do que a infecção por um isolado pansusceptível (Cummings et
4555 al., 2016).

4556 Estudo realizado no Reino Unido, associou o isolamento de *Salmonella* spp. nos
4557 animais a elevada taxa de mortalidade (Netherwood et al., 1996). No Brasil o
4558 isolamento da *Salmonella* spp. foi identificada em sete dos oito animais que vieram a
4559 óbito durante o estudo (Olivo et al., 2016). Porém, essa associação não é uniformemente
4560 observada (Frederick et al., 2009). Nosso estudo identificou 10% de mortalidade nos
4561 animais nos quais *Salmonella* spp. foi isolada no cultivo bacteriológico das fezes (n=
4562 3/30). Nesses animais foram identificados os sorovares *S. Minnesota*, *S. Infantis*, *S.*

4563 *enterica* subsp *enterica* 4,12:d:-. Resultado semelhante ao estudo realizado no Chile
4564 durante um surto por *S. Typhimurium* em potros desmamados que reportou 13% de
4565 mortalidade dos animais (Soza-Ossandón et al., 2018).

4566 A susceptibilidade dos equinos a infecção e a gravidade da doença está em parte
4567 relacionada ao sorovar envolvido (Walker et al., 1991). Estudos demonstram que os
4568 sorovares que causam doença clínica nos animais são diferentes dos sorovares presentes
4569 na população geral de equinos (Traub-Dargatz et al., 2000).

4570 Os sorovares de *Salmonella* spp. apesar de serem geneticamente relacionados,
4571 diferem significativamente no seu potencial patogênico, apresentando diferenças na
4572 gravidade da doença clínica nos animais afetados (Traub-Dargatz et al., 2000; Schott et
4573 al., 2001; Ward et al., 2005; Soza-Ossandón et al., 2020).

4574 Uma característica do nosso estudo foi a ausência de isolamento do sorovar *S.*
4575 *Typhimurium*. Em equinos, o sorovar *S. Typhimurium* é descrito como altamente
4576 patogênico sendo responsável por severos sinais clínicos com elevadas taxas de
4577 mortalidade nos animais afetados (Traub-Dargatz et al., 2000; Schott et al., 2001; Ward
4578 et al., 2005; Soza-Ossandón et al., 2020).

4579 A sorotipificação e testes de sensibilidade aos antimicrobianos revelaram a
4580 ocorrência de 13 diferentes sorovares de *Salmonella* spp. (*S. Infantis*, *S. Minnesota*, *S.I.*
4581 *4,5,12:i:-*, *S. enterica* subsp *enterica* 6,8:-:-, *S. Minnesota*, *S. Oranienburg*, *S. Newport*,
4582 *S. Anatum*, *S. IIIb 61:c:z35*, *S.I.:O9:-:1,5*, *S. Braenderup*, *S. enterica* subsp *enterica*
4583 *4,12:d:-*, *S. Cerro* e *S. Give*) com 15 diferentes perfis fenotípicos de resistência aos
4584 antimicrobianos.

4585 A faceta mais importante do ponto de vista epidemiológico residiu na incidência
4586 de sorovares comuns em processos entéricos humanos como *S. Infantis*, *S. Newport*, *S.*
4587 *I 1,4,5,12:i:-*. O estudo identificou sorovares já descritos em equinos como *S. Infantis* *S.*
4588 *Typhimurium* monofásica *S. I 1,4,[5],12:i:-* *S. Anatum* *S. Oranienburg*, *S. Give*, *S.*
4589 *Newport* *S. Cerro*. Por outro lado, houve a identificação dos sorovares *S. enterica* subsp
4590 *enterica* 4,12:d:-, *S. enterica* subsp. *enterica* *S.I.O9:-:1,5*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*
4591 *S. IIIb 61:c:z35* e *S. enterica* subsp *enterica* 6,8:-:-, que de acordo com a literatura
4592 compilada, não possuem descrição na espécie equina sendo mencionados pela primeira
4593 vez no contexto da população equina no Brasil e cuja patogenicidade nessa espécie é
4594 desconhecida (Hofer et al., 2000; Dunowska et al., 2007; Singh et al., 2007; Singh et
4595 al., 2009; Ribeiro et al., 2010; Dallap Schaer et al., 2010; Ribeiro et al., 2010; Harris et

4596 al., 2012; Juffo et al., 2016; Olivo et al., 2016; Cummings et al., 2016; Haq et al., 2018;
4597 Leon et al., 2018; Martelli e al., 2019; Soza-Ossadón, 2020; Rivera et al., 2021).

4598 *S. Infantis* foi o que apresentou maior frequência de isolamento (26,6%) no
4599 estudo. Em equinos o sorovar foi descrito em animais hospitalizados (Dunowska et al,
4600 2007; Leon et al., 2018; Soza-Ossadón et al., 2020). A taxa de isolamento em equinos
4601 nos Estados Unidos foi 8,4% (Leon et al., 2018) e no Reino Unido de 7,7% (APHA,
4602 2020). Assim como descrito em seres humanos e, em equinos hospitalizados, nossos
4603 isolados também apresentaram elevada resistência aos antimicrobianos sulfametoxazol
4604 + trimetoprima, estreptomicina, tetraciclina além de elevada resistência aos β -
4605 lactâmicos (ampicilina, cefazolina, cefoxitina, cefotaxima, ceftazidima), gentamicina,
4606 sulfadiazina e cloranfenicol (Hindermann et al., 2017; Ferrari et al., 2019). Todos os
4607 isolados do sorovar *S. Infantis* foram multirresistentes e produtores de AmpC. *S.*
4608 *Infantis* é o quarto principal causador de salmonelose nos seres humanos na Europa,
4609 sendo as aves e suínos os principais reservatórios (Hindermann et al., 2017; Ferrari et
4610 al., 2019).

4611 *S. I 1,4,5,12:i-* foi o terceiro sorovar mais isolado em nosso estudo (10%). Nos
4612 Estados Unidos foi responsável por apenas 0,39% (n=1) dos isolamentos em equinos
4613 (Leon et al., 2018). Já no Reino Unido, houve pico de incidência durante os anos de
4614 2013 e 2014 com 45,1 % a 27,8% do total de isolados de salmonelose em equinos
4615 respectivamente (Martelli et al., 2019). Porém, entre os anos de 2015 a 2019, houve
4616 queda da incidência nos equinos variando de 10,6% no ano de 2015 a 4,7% no ano de
4617 2019 (APHA, 2020). No Brasil, este sorovar foi identificado em potro de um mês de
4618 idade que apresentava quadro de enterite (Ribeiro et al., 2010). *S.I 1,4,5,12:i-* é um
4619 sorovar emergente que apresentou um aumento considerável de casos em seres humanos
4620 ao redor do mundo nos últimos 10 anos, sendo frequentemente associado a infecções
4621 alimentares na Europa, América do Norte, América do Sul e Oceania (Tavechio et al.,
4622 2004; Naberhaus et al., 2019; Soyer et al., 2020). Constitui-se também como um
4623 sorovar emergente e de elevada importância em suínos, bovinos e aves (Tavechio et al.,
4624 2004; Soyer et al., 2020).

4625 O *S. Newport* foi o quinto (3,3%) sorovar mais isolado em nosso estudo.
4626 Diversos estudos demonstram a presença do sorovar *S. Newport* na espécie equina
4627 (Castor et al., 1989; Singh et al., 2007; Singh et al., 2009; Dallap Schaer et al., 2010;
4628 Cummings et al., 2016; Olivo et al., 2016; Haq et al., 2018; Leon et al., 2018; Martelli
4629 et al., 2019). Nos Estados Unidos, o sorovar *S. Newport* caracteriza-se com um dos

4630 principais sorovares em equinos com 18,04% (Leon et al., 2018) e 27,3% de isolamento
4631 (Cummings et al., 2016) e no Reino Unido foi responsável por 9,5% dos isolamentos
4632 em equinos no ano de 2019 (APHA, 2020). No Brasil, estudos apontam diferentes
4633 índices de prevalência variando de 1,69% em carcaças de equinos (Hofer et al., 2000),
4634 1,66% em potros sem diarreia (Olivo et al., 2016) e 33,3% em potros com enterite
4635 (Ribeiro et al., 2010). Segundo a Organização Mundial de Saúde é um dos sorovares
4636 mais prevalentes em seres humanos ao redor do mundo (Pan et al., 2018; Ferrari et al.,
4637 2019).

4638 O isolamento de *Salmonella* spp., em 9 animais sem diarreia, sendo um isolado
4639 multirresistente, comprova a importância dos animais portadores assintomáticos na
4640 epidemiologia da doença promovendo a manutenção e disseminação da bactéria no
4641 ambiente com características de resistência. Grande parte dos haras amostrados não
4642 realizam o isolamento dos animais doentes, sendo assim, muitos dos animais
4643 considerados sadios apresentavam contato com os animais doentes, fato que aumenta o
4644 risco de disseminação do agente infeccioso na população, podendo contribuir para a
4645 presença de isolados com características de resistência nos animais sadios do estudo,
4646 além de dificultar a implementação de práticas sanitárias adequadas de controle da
4647 infecção

4648 De acordo com os nossos resultados, os antimicrobianos que apresentaram
4649 menores índices de resistência foram amicacina, ceftiofur, ciprofloxacina, ceftriaxona,
4650 aztreonam e imipenem. Porém, todos devem ter o seu uso limitado em virtude de serem
4651 antimicrobianos de eleição no tratamento de infecções por salmonelose em seres
4652 humanos (Cummings et al., 2016).

4653 Preconiza-se a realização de cultivo bacteriológico e perfil de sensibilidade aos
4654 antimicrobianos “in vitro” dos casos clínicos como forma de monitoramento das
4655 características epidemiológicas da propriedade. A implementação frequente dessas
4656 ferramentas de diagnóstico fornecerão informações importantes sobre a prevalência dos
4657 principais patógenos, bem como sobre o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos
4658 local, norteando o clínico na escolha do melhor tratamento para o animal que apresente
4659 sintomatologia clínica.

4660 O desenvolvimento de métodos de teste rápidos e confiáveis para *S. enterica* em
4661 amostras fecais são considerados essenciais para facilitar a implementação de um
4662 controle eficaz da infecção em populações de cavalos. Os animais podem ser infectados
4663 por uma ampla gama de sorovares podendo a sua incidência variar ao longo do tempo e

4664 localização geográfica. Sendo assim, é importante garantir que o teste que está sendo
4665 empregado possa detectar uma ampla variedade de sorovares.

4666 O cultivo bacteriológico enriquecido e a reação em cadeia da polimerase (PCR)
4667 são atualmente os métodos de detecção mais empregados para a identificação de
4668 *Salmonella* spp. A amplificação do DNA utilizando a técnica de PCR é uma ferramenta
4669 de detecção rápida, de elevada sensibilidade capaz de detectar micro-organismos em
4670 níveis abaixo dos detectados pelo cultivo, apresentando valor no caso de eliminação das
4671 bactérias em baixa concentração, não viáveis ou quando o isolamento é difícil (Cohen
4672 et al., 1994).

4673 O gene de invasão A (*InvA*), tem se tornado o mais frequentemente utilizado
4674 desde a sua descoberta (Rahn et al., 1992; Stone et al., 1994; Gentry-Weekes et al.,
4675 2002; Arnolde et al., 2004; Mainar-Jaime et al., 2008; Pusterla et al., 2010; Wilkins et
4676 al., 2010; Ekiri et al., 2016). Para o gene *invA*, através de análises de bioinformática foi
4677 identificado apenas um micro-organismo com a mesma sequência de alinhamento
4678 *Photobacterium profundum* (bactéria gram-negativa encontrada em ambientes
4679 marinhos), sendo este, considerado um primer específico para *Salmonella* spp. (Ekiri et
4680 al., 2016). Este gene está localizado na ilha de patogenicidade tipo-1 sendo responsável
4681 pela codificação de proteínas que são componentes do sistema de secreção tipo III,
4682 importante para o processo de invasão epitelial. Sendo assim, isolados de *Salmonella*
4683 spp. que não possuem o gene *invA*, são incapazes de invadir cultura de células epiteliais
4684 (Fortes et al., 2012). A PCR baseada na detecção do gene *invA* é considerada uma
4685 técnica de elevada sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de salmonelose em
4686 amostras após o enriquecimento seletivo (Rahn et al., 1992; Schrank et al., 2001;
4687 Malorny et al., 2003; Pusterla et al., 2010).

4688 Destaca-se o fato do presente trabalho ser o primeiro no país a utilizar a técnica
4689 de biologia molecular para a detecção de *Salmonella* spp. em amostras fecais de potros.

4690 Não foi identificado aumento na detecção de animais positivos nas técnicas de
4691 qPCR SYBR[®] e qPCR Taqman[®] utilizando um período de pré-enriquecimento em
4692 tetracionato comparado aos testes de qPCR SYBR[®] e qPCR Taqman[®] com a extração
4693 direto das fezes. Demonstrando a eficácia e aplicabilidade da qPCR pelos métodos de
4694 corante fluorescente (SYBR[®] Green) e sonda específica (Taqman[®]) para o gene *invA*
4695 sem a etapa de pré-enriquecimento em tetracionato, como ferramenta de diagnóstico de
4696 *Salmonella* spp. em amostras clínicas, trazendo como grande vantagem a rapidez nos

4697 resultados e a elevada sensibilidade e especificidade na detecção do agente com a
4698 extração do material genético diretamente das fezes de animais clinicamente doentes.

4699 A necessidade do pré-enriquecimento, limita a utilização da PCR como um teste
4700 rápido para detecção de *Salmonella* spp. nas fezes (Sibley et al., 2003; Bohaychuk et al.,
4701 2007; Mainar-Jaime et al., 2008). A precocidade de detecção de animais eliminadores,
4702 especialmente em hospitais, centros de treinamento e reprodução é importante para a
4703 rápida implementação de medidas de controle a fim de reduzir o risco de surtos (Smith,
4704 1981; Palmer e Benson, 1984; Spier, 1993; Smith, 2008). Além disso, especialmente em
4705 potros, a rapidez nos resultados é muito importante pois nesta categoria a
4706 implementação de terapia assertiva de forma precoce é imperativo, trazendo maiores
4707 índices de sobrevivência aos animais.

4708 Estudo que avaliou a efetividade do diagnóstico de *Salmonella* spp. em amostras
4709 fecais seriadas de animais hospitalizados com e sem sinais clínicas de diarreia pela
4710 técnica de qPCR para o gene *invA*, evidenciou que a técnica pode ser utilizada em
4711 animais com ou sem sinais clínicas de doença gastrointestinal, podendo ser empregada
4712 como ferramenta de triagem em animais com sinais clínicos de diarreia. Porém, os
4713 animais com resultados positivos na qPCR devem ter cultivos seriados de fezes
4714 realizadas a fim de reduzir os resultados falso-positivos, além da obtenção de dados
4715 adicionais como teste de susceptibilidade aos antimicrobianos “in vitro” e
4716 sorotipificação (Ekiri et al., 2016). Outro estudo que comparou os resultados de qPCR
4717 ao cultivo, identificou que a qPCR neste estudo performou de maneira similar ao cultivo
4718 podendo ser considerada uma ferramenta útil em substituição ao cultivo para a triagem
4719 de grande número de amostras, particularmente quando a prevalência de *Salmonella*
4720 spp. é baixa. Porém, o cultivo bacteriológico de amostras com resultados positivos de
4721 qPCR sempre deve ser realizado (Wilkins et al., 2010).

4722 No presente estudo, assim como relatados em outros trabalhos, houve maior
4723 número dos resultados positivos pela qPCR SYBR® e qPCR Taqman®, com ou sem
4724 enriquecimento em tetracionado, em relação ao cultivo (Carli et al, 2001; Schrank et al.,
4725 2001; Sibley et al., 2003; Arnold et al., 2004; Malorny e Hoorfar, 2005; Ward et al.,
4726 2005; Bohaychuk et al., 2007; Mainar-Jaime et al., 2008; Lin et al., 2011; Gal-Mor,
4727 2019). O cultivo bacteriológico identificou 15% (n=30) de animais positivos, a qPCR
4728 SYBR® com tetracionato apresentou 22,5% (n=45) de animais positivos, qPCR Taqman®
4729 com tetracionato 22% (n=44), qPCR SYBR® sem combinação ao meio de

4730 enriquecimento seletivo identificou 24% (n=48) e a qPCR Taqman® sem
4731 enriquecimento seletivo indicou 20% (n=40) de animais positivos.

4732 O maior número de detecções das técnicas de qPCR em relação ao cultivo pode
4733 ocorrer pela presença de micro-organismos não viáveis nas amostras analisadas
4734 (Malorny e Hoorfar, 2005; Ward et al., 2005), testagem de uma amostra por animal
4735 (Cohen et al., 1996; Kurowski et al., 2002), tratamento dos animais com
4736 antibióticos, presença de animais portadores assintomáticos que podem apresentar
4737 menores quantidades de bactérias eliminadas nas fezes (Kim et al. 2001; Ernst et al.
4738 2004; Ward et al. 2005) e pela distribuição desigual das bactérias nas amostras (Ekiri et
4739 al., 2010).

4740 Em nosso estudo, houve a ocorrência de resultados negativos na qPCR e
4741 positivos no cultivo, o que já foi descrito em outros estudos (Wilkins et al., 2010;
4742 Mainar-Jaime et al., 2008; Ward et al., 2005; Chapman et al., 2006).

4743 Estudo realizado para a identificação da eliminação de *Salmonella* spp. equinos
4744 de corrida no estado americano de Louisiana revelou que seis animais positivos no
4745 cultivo foram negativos na PCR, fato que o autor inferiu ser devido a um maior tempo
4746 de congelamento que pode ter danificado o DNA das amostras, ou pela presença de
4747 inibidores residuais das amostras de fezes (Chapman, 2006).

4748 Mainar-Jaime et al. (2008) identificaram uma amostra que foi cultivo positivo e
4749 PCR negativo pertencente ao sorovar Mbandaka., resultado relacionado a presença de
4750 inibidores da PCR (Mainar-Jaime et al., 2008).

4751 Wilkins et al. (2010) avaliaram duas populações de equinos e identificaram 21%
4752 de animais positivos por cultivo bacteriológico na população 1 e 42% na população 2. A
4753 qPCR falhou em detectar três (3 de 60 cultivos positivos) cultivos positivos na
4754 população 1 e, em quatro cultivos positivos (4 de 125 cultivos positivos) na população
4755 2.

4756 Ward et al. (2005) em um estudo realizado com 116 cavalos hospitalizados
4757 revelou que dos 36 cultivos positivos com isolamento de *Salmonella* spp., 21 foram
4758 positivos na PCR positivas e 15 foram negativos na PCR e, das 837 amostras nas quais
4759 não houve isolamento de *Salmonella* spp., 573 (68%) obtiveram resultados negativos na
4760 PCR (Ward et al., 2005).

4761 Muitos fatores podem ser responsáveis por esses resultados. Os sorovares que
4762 apresentaram resultado negativo na qPCR em nosso estudo foram *S. Cerro*, *S. Give*, *S.*
4763 *Minnesota*, *S.I. 4,5,12:i:-*, *S. Anatum*, *S. Infantis*, *S. enterica* subsp *enterica* 4,12:d:-, *S.*

4764 Oranienburg. Nosso estudo teve como referência a técnica de qPCR descrita por
4765 Pusterla et al., (2010) cuja sensibilidade e especificidade foram testadas para os
4766 sorovares *S. Infantis*, *S. Braenderup*, *S. Oranienburg*, *S. Montevideo*, *S. Thompson*, *S.*
4767 *Newport*, *S. Litchfield*, *S. Muenchen*, *S. Enteritidis*, *S. Anatum*, *S. Cannstat*, *S. Give*, *S.*
4768 *New Brunswick*, *S. Brandenburg*, *S. Saintpaul*, *S. Mbandaka*, *S. Irumu*, *S.*
4769 *Typhimurium*.

4770 Com exceção dos sorovares *S. Anatum*, *S. Infantis* e *S. Oranienburg*, os
4771 sorovares *S. Cerro*, *S. Minnesota*, S.I. 4,5,12:i:- e *S. enterica* subsp *enterica* 4,12:d:- não
4772 foram incluídos nas técnicas de padronização de PCR também realizados em outros
4773 estudos em equinos (Rahn et al., 1992; Cohen et al., 1994; Stone et al., 1994; Kwang et
4774 al., 1996; Sibley et al., 200; Pusterla et al., 2010).

4775 Cohen et al., (1994) em estudo em aves, relatou a PCR como sendo mais
4776 sensível que o cultivo na detecção de *Salmonella* spp. em fezes. *Salmonella* spp. foi
4777 detectada em até 1 ufc/g de fezes com a PCR e 10² ufc/g de fezes no cultivo
4778 bacteriológico. Porém, este mesmo autor encontrou resultados diferentes quando
4779 realizou o estudo em fezes de equinos utilizando os mesmos primers. A sensibilidade
4780 analítica do cultivo bacteriológico com enriquecimento seletivo foi similar (10² ufc de
4781 *Salmonella* spp./g de fezes), mas a PCR somente detectou *Salmonella* spp. com 10³ ufc
4782 de *Salmonella* spp./g de fezes. Sendo assim, a sensibilidade analítica da PCR pode ser
4783 variável e as condições experimentais podem alterar o resultado do ensaio.

4784 Além disso, mutações bacterianas podem resultar em deleção de segmentos
4785 genômicos, portanto a perda de alguns fatores de virulência, como o gene *invA*, pode
4786 não ser um evento terminal para a invasão bacteriana, porém a utilização desse gene na
4787 PCR pode não detectar os mutantes *invA* de *Salmonella* spp. (Ginocchio et al., 1997;
4788 Chapman, 2006).

4789 Já foi relatado que a PCR baseada no gene *invA* falhou em detectar pelo menos
4790 três sorovares *S. Saintpaul*, *S. Litchfield* e *S. Senftenberg* (Rahn et al., 1992; Malorny et
4791 al., 2003). Perda de amplicons foi a justificativa dos nove resultados negativos na PCR
4792 para os genes *InvE* e *invA* e positivos no cultivo bacteriológico de fezes (Gentry-Weeks
4793 et al., 2002).

4794 Sendo assim, os resultados podem ser em decorrência da presença de sorovares
4795 em nosso estudo que não foram incluídos nas técnicas de padronização de PCR e
4796 qPCR para *Salmonella* spp. em equinos e que também poderiam apresentar
4797 características genéticas que impedissem a detecção via qPCR baseado no gene *invA*.

4798 A precocidade da detecção por qPCR em uma amostra clínica quando
4799 comparada ao cultivo, aliada a não necessidade de realização da etapa de pré-
4800 enriquecimento da amostra, viabiliza a utilização dos testes de qPCR como triagem em
4801 animais que apresentam sintomatologia clínica de alteração gastrointestinal, o que é
4802 muito importante em se tratando de potros com diarreia, cujo diagnóstico e a instituição
4803 de terapia realizados de forma precoce melhoram o prognóstico, e a implementação das
4804 medidas de preventivas podem também ser instituídas de forma mais rápida e eficiente
4805 (Smith, 1981; Palmer e Benson, 1984; Spier, 1993; Smith, 2008).

4806

4807 **Limitações do estudo:** Dentre as limitações encontradas para a condução do estudo
4808 destacamos a utilização de antimicrobianos nos animais em período anterior a coleta das
4809 amostras para a realização do teste de cultivo bacteriológico. Dos animais que
4810 apresentaram isolamento de *Salmonella* spp., 16 (53,33%) receberam tratamento com
4811 antibioticoterapia. Dos 200 animais incluídos no estudo, 141 animais (70,5%) não
4812 estavam sob tratamento com antimicrobianos no momento da coleta da amostra e 59
4813 animais (29,5%) estavam sob tratamento com antibioticoterapia no momento da coleta
4814 das amostras, sendo todos classificados como doentes. Sendo assim, 59% dos animais
4815 doentes já haviam recebido antibioticoterapia em momentos anteriores a coleta da
4816 amostra. Os principais antimicrobianos utilizados foram azitromicina em associação a
4817 rifampicina (n=15), sulfametoxazol + trimetoprima (n=13), metronidazol (n=12),
4818 ampicilina (n=11), ceftiofur (n=10), gentamicina (n=4), penicilina (n=2), florfenicol
4819 (n=2), claritromicina (n=1 e oxitetraciclina (n=1). Outra limitação do estudo foi o
4820 período de 11 meses de congelamento das amostras a -80 °C até a realização das
4821 técnicas de biologia molecular. O período prolongado de congelamento pode ter
4822 influenciado a habilidade do meio de enriquecimento seletivo, tetracionato, em
4823 promover a multiplicação e seleção das bactérias, impedindo assim, a expressão do
4824 diferencial nos resultados dos testes de biologia molecular nos quais ele foi empregado.

4825

4826 7. CONCLUSÃO

4827

4828 Nosso estudo confirmou a Salmonelose como um importante agente de diarreia
4829 em potros jovens devendo ser incluído no diagnóstico diferencial em animais de até 1
4830 ano de idade que apresentem alterações gastrointestinais.

4831 A sorotipificação revelou 13 diferentes sorovares de *Salmonella* spp. Houve a
4832 identificação de sorovares importantes em processos entéricos humanos como *S.*
4833 *Infantis*, *S. Newport*, *S. I 1,4,5,12:i:-*. O estudo identificou sorovares já descritos em
4834 equinos como *S. Infantis* *S. Typhimurium* monofásica *S. I 1,4,[5],12:i:-* *S. Anatum* *S.*
4835 *Oranienburg*, *S. Give*, *S. Newport* *S. Cerro*. Por outro lado, houve a identificação dos
4836 sorovares *S. enterica* subsp *enterica* 4,12:d:-, *S. enterica* subsp. *enterica* S.I.O9:-:1,5, *S.*
4837 *enterica* subsp. *diarizonae* *S. IIIb* 61:c:z35 e *S. enterica* subsp *enterica* 6,8:-:- que não
4838 possuem descrição na espécie equina sendo mencionados pela primeira vez no contexto
4839 da população equina no Brasil e cuja patogenicidade nessa espécie é desconhecida.

4840 A realização dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos utilizando 24
4841 antimicrobianos indicados pelo CLSI humano e veterinário para Enterobactérias trouxe
4842 as preciosas informações sobre os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos dos
4843 isolados de *Salmonella* spp. presentes na população estudada. A análise do perfil de
4844 sensibilidade aos antimicrobianos constatou multirresistência em 43,33% (n=13) dos
4845 isolados. A análise genética identificou 10 isolados (33,3%) produtores de enzimas β -
4846 lactamases.

4847 A existência de sorovares multirresistentes na população equina estudada com
4848 elevado potencial de transmissão zoonótica, enfatiza a importância da implementação
4849 de medidas de biossegurança nas propriedades, especialmente pelas pessoas que lidam
4850 diretamente com os animais, bem como a utilização racional dos antimicrobianos nos
4851 animais a fim de se diminuir a pressão de seleção. O fomento ao diagnóstico clínico e
4852 laboratorial das enfermidades deve ser realizado, e pela individualidade encontrada nos
4853 isolados, o monitoramento do perfil de resistência aos antimicrobianos também deve ser
4854 implementado a fim de que recomendações e tratamentos efetivos sejam instituídos nos
4855 animais.

4856 O cultivo bacteriológico revelou 15% (n=30) de animais positivos. Houve maior
4857 frequência de isolamento em animais com diarreia (21%) quando comparado aos
4858 animais sem diarreia (9%). Em todas as técnicas de qPCR empregadas também ocorreu
4859 maior detecção de animais positivos no grupo de animais com diarreia. Houve
4860 superioridade dos resultados positivos pela qPCR em relação ao cultivo bacteriológico.
4861 O método de qPCR SYBR[®] com tetrionato apresentou 22,5% (n=45) de animais
4862 positivos, qPCR Taqman[®] com tetrionato identificou 22% de animais positivos
4863 (n=44), qPCR SYBR[®] direto fez 24% (n=48) de animais positivos e a qPCR Taqman[®]
4864 direto fez evidenciou 20% (n=40) de animais positivos. A qPCR SYBR[®] direto fez

4865 foi a técnica que apresentou maior concordância com os resultados obtidos no cultivo
4866 bacteriológico e também foi a técnica que apresentou o menor número de resultados
4867 negativos na qPCR e que foram positivos no cultivo bacteriológico.

4868 Os resultados demonstraram a utilidade da técnica de qPCR na detecção de
4869 animais portadores ou em animais com sintomatologia clínica de diarreia utilizando
4870 uma amostra por animal porém, devendo sempre ser associada ao cultivo bacteriológico
4871 para obtenção do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos e sorotipificação.

4872 A precocidade da detecção por qPCR em uma amostra clínica por animal,
4873 quando comparada ao cultivo bacteriológico, aliada a não necessidade de realização da
4874 etapa de pré-enriquecimento da amostra, viabiliza a utilização dos testes de qPCR como
4875 triagem em animais que apresentam sintomatologia clínica de alteração gastrointestinal, o
4876 que é muito importante em se tratando de potros com diarreia cujo diagnóstico e a
4877 instituição de terapia realizados de forma precoce melhoram o prognóstico, e a
4878 implementação das medidas preventivas podem também ser instituídas de forma mais
4879 rápida e eficiente.

4880

4881 **8. BIBLIOGRAFIA**

4882

- 4883 1. AL-BAYSSARI, C.; DABOUSSI, F.; HAMZE, M.; ROLAIN, J.M. Detection of
4884 expanded-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria in the 21st century.
4885 *Expert Review of Anti-Infective Therapy.*, v. 13, p.1139- 58, 2015.
- 4886 2. ALINOVI, C.A.; WARD, M.P.; COUETIL, L.L.; WU, C.C. Detection of
4887 *Salmonella* organisms of contamination in horse stalls at a veterinary teaching
4888 hospital. *JAVMA.*, v.223, n.11, p. 1640-1644, 2003.
- 4889 3. AMAVISIT, P. et al. Rapid PCR detection of *Salmonella* in horse faecal
4890 samples. *Vet Microbiol.*, v.79, n.1, p. 63-74, 2001.
- 4891 4. AMAVISIT, P.; MARKHAM, P.F.; LIGHTFOOT, D.; WHITHEAR, K.G.;
4892 BROWNING, G.F. Molecular epidemiology of *Salmonella* Heidelberg in an
4893 equine hospital. *Vet Microbiol.*, v.80, p.85-98, 2001.
- 4894 5. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Gerente da Gerência de
4895 Vigilância e Monitoramento em Serviços de Saúde – GVIMS Gerente Geral de
4896 Tecnologia em Serviços de Saúde – GGTES. Prevenção de infecções por
4897 microrganismos multirresistentes em serviços de saúde. Agência Nacional de
4898 Vigilância Sanitária, 1ed., p. 10-24, 2021.
- 4899 6. APHA. Animal and Plant Health Agency. Department for Environment, Food
4900 and Rural Affairs. *Salmonella in Livestock Production in GB 2019*. 2020.
4901 Disponível em: <www.gov.uk/government/publications> Acesso em: 12 nov.
4902 2020.

- 4903 7. ARNOLD, T.; SCHOLZ, H.C.; MARG, H.; RÖSLER, U.; HENSEL, A. Impact
4904 of invA-PCR and culture detection methods on occurrence and survival of
4905 salmonella in flesh internal organs and lymphoid tissues of experimentally
4906 infected pigs. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet Public Health.*, v.51, n10, p. 459-
4907 463, 2004.
- 4908 8. ARNOLD, C.E.; CHAFFIN, M.K.; STEINER, J. et al. The fecal microbiome of
4909 horses with antimicrobial-associated or Salmonella colitis compared to health
4910 horses. *Equine Internal Medicine, AAEP Proceedings.*, v.65, 2019.
- 4911 9. AVMA. Committee on Antimicrobials. Antimicrobial Resistant Pathogens
4912 Affecting Health in the United States. 109p, 2020. Disponível em:
4913 <[https://www.avma.org/sites/default/files/202010/AntimicrobialResistanceFullR
4914 eport.pdf](https://www.avma.org/sites/default/files/202010/AntimicrobialResistanceFullRport.pdf)> Acesso em 12 nov, 2020.
- 4915 10. BAKER, J.R. An outbreak of salmonellosis involving veterinary patients. *Vet*
4916 *Rec.*, v.85, p. 8-10, 1973.
- 4917 11. BARBAU-PIEDNOIR, E.; BERTRAND, S.; MAHILLON, J.; ROOSENS,
4918 N.H.; BOTTELDOORN, N. SYBR® Green qPCR Salmonella detection system
4919 allowing discrimination at genus, species and subspecies levels. *Appl. Microbiol.*
4920 *Biotechnol.*, v. 97, n.22, p. 9811-9824, 2013.
- 4921 12. BAUERNFEIND, A.; STEPLINGER, I.; JUNGWIRTH, T.; ERNST, S.;
4922 CASELLAS, J.M. Sequences of β -lactamase genes encoding CTX-M-1
4923 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with
4924 those of other β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, v. 40, p.
4925 509-513, 1996.
- 4926 13. BEGG, A.P.; JOHNSTON, K.G.; HUTCHINS, D.R.; EDWARDS, D.J. Some
4927 aspects of the epidemiology of equine salmonellosis. *Australian Veterinary*
4928 *Journal.*, v.7, p. 221-223, 1988.
- 4929 14. BENDER, J.B.; HEDBERG, C.W.; BOXRUD, D.J.; BESSER, J.M.;
4930 WICKLUND, J.H.; SMITH, K.E. Use of molecular subtyping in surveillance for
4931 Salmonella enterica serotype typhimurium. *N Engl J Med.*, v. 344, p. 189-195,
4932 2001.
- 4933 15. BENDER, J.B.; TSUKAYAMA, D.T. Horses and the risk of zoonotic infections.
4934 *Clin Equine.* v. 20, p. 643-653, 2004.
- 4935 16. BOHAYCHUK V.M.; GENSLER G.E.; McFALL M.E. et al. A real-time PCR
4936 assay for the detection of Salmonella in a wide variety of food and food-animal
4937 matrices. *Journal of Food Protection.*, v.70, n.5, p.1080-1087, 2007.
- 4938 17. BOTELHO L.A.B.; KRAYCHETE G.B.; COSTA E SILVA J.L.; REGIS
4939 D.V.V.; PICÃO R.C.; MOREIRA B.M.; BONELLI R.R. Widespread
4940 distribution of CTX-M and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in
4941 Escherichia coli from Brazilian chicken meat. *Memórias do Instituto Oswaldo*
4942 *Cruz.*, v. 110, p. 249-254, 2015.

- 4943 18. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde.
4944 Departamento de Apoio à Gestão de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral
4945 de Laboratórios de Saúde Pública. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de
4946 *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*. Brasília, 2011.
4947 60p.
- 4948 19. BREWER, B.D.; KOTERBA, A.M.; CARTER, R.L., et al. Comparison of
4949 empirically developed sepsis score with a computer generated and weighted
4950 scoring system for the identification of sepsis in the equine neonate. *Equine Vet*
4951 *J.*, v. 20, p. 23–24, 1988.
- 4952 20. BROWNING, G.F.; CHALMERS, R.M.; SNODGRASS, D.R. et al. The
4953 prevalence of enteric pathogens in diarrhoeic thoroughbred foals in Britain and
4954 Ireland. *Equine Vet J.*, v. 23, p. 397-398, 1991.
- 4955 21. BURGESS B.A. e MORLEY P.S. Managing *Salmonella* in Equine Populations.
4956 *Vet. Clin. Equine.*, v.30, n.3, p. 623-640, 2014. 2014.
- 4957 22. CANNON R.M.; NICHOLLS T.J. Relationship between sample weight,
4958 homogeneity and sensitivity of fecal culture for *Salmonella enterica*. *J. Vet Diagn*
4959 *Invest.*, v.14, n.1, p. 60-62, 2002.
- 4960 23. CARLI T.; EYIGOR A.; CANER V. Prevalence of *Salmonella* serovars in
4961 chickens in Turkey. *Journal of Food Protection.*, v.64, p. 1832-1835, 2001.
- 4962 24. CARTER J.D.; HIRD D.W.; FARVER T.B. et al. Salmonellosis in hospitalized
4963 horses: seasonality and case fatality rates. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.188, p.163-
4964 167, 1986.
- 4965 25. CARTER, M.E.; CHENGAPPA, M.M. Enterobacteria. In: CARTER, G.R.,
4966 COLE, J.R. (Ed.). *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and*
4967 *mycology* 5.ed. New York: Academic Press, Inc., p.107-128, 1990.
- 4968 26. CASTOR M.L.; WOOLEY R.E.; SHOTTS E.B.; BROWN J.; PAYER J.B.
4969 Characteristics of *Salmonella* isolated from an outbreak of equine salmonellosis
4970 in a veterinary teaching hospital. *Equine Vet Sci.* v. 9, n.5, p. 236-241, 1989.
- 4971 27. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Department of Health and
4972 Human Services. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019.
4973 Atlanta, 2019. 150p. Disponível em: <
4974 [https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-](https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf)
4975 [508.pdf](https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf)> Acesso em: 12 nov. 2020.
- 4976 28. CEJAS D.; VIGNOLI R.; QUINTEROS M.; MARINO R.; CALLEJO R.;
4977 BETANCOR L.; GUTKIND G.O.; RADICE M.A. First detection of CMY-2
4978 plasmid mediated β - lactamase in *Salmonella* Heidelberg in South America. *Ver*
4979 *Argent Microbiol.*, v.46, n1, p. 30-33, 2014.
- 4980 29. CHAPMAN, ANNA MARIE, Characterizing *Salmonella* fecal shedding among
4981 racehorses in Louisiana. 2006. 70f. Dissertação (Mestrado)- Louisiana State
4982 University and Agricultural and Mechanical College, Baton Rouge.
- 4983 30. CHEN W.; MARTINEZ G.; MULCHANDANI A. Molecular beacons: a real-
4984 time polymerase chain reaction assay for detecting *Salmonella*. *Anal Biochem.*,
4985 v. 280, n.1, p. 166-172, 2000.

- 4986 31. CHIU C.H.; OU J.T. Rapid identification of Salmonella serovars in feces by
4987 specific detection of virulence genes, *invA* and *spvC*, by an enrichment broth
4988 culture-multiplex PCR combination assay. *J Clin Microbiol.*, v. 34, n.10, p.
4989 2619-2622, 1996.
- 4990 32. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance
4991 Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria
4992 Isolated From Animals. 4ed. CLSI Suplemento VET08. Wayne, Pennsylvania
4993 Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018, 200p.
- 4994 33. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance
4995 Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30ed. CLSI Suplemento
4996 M100. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standars Institute, 2020,
4997 332p.
- 4998 34. COELHO-CASTELO, A.A.; TROMBONE, A.P.F; ROCHA, C.D.; LORENZI,
4999 J.C.C. Resposta imune a doenças infecciosas. *Medicina.*, v.42. n.2, p.127-142,
5000 2009.
- 5001 35. COHEN N.D. et al. Detection of Salmonella enteritidis in equine feces using the
5002 polymerase chain reaction and genus-specific oligonucleotide primers. *J Vet*
5003 *Diagn Invest.*, v.7, n.2, p. 219-222, 1995.
- 5004 36. COHEN N.D. et al. Detection of Salmonella enteritidis in feces from poultry
5005 using booster polymerase chain reaction and oligonucleotide primers specific for
5006 all members of the genus Salmonella. *Poult Sci.*, v. 73, n.2, p. 354-357, 1994.
- 5007 37. COHEN N.D. et al. Genus-specific detection of salmonellae in equine feces by
5008 use of the polymerase chain reaction. *Am J Vet Res.*, v.55, n.8, p. 1049-1054,
5009 1994.
- 5010 38. COHEN, N. D.; CHAFFIN, M. K. Causes of diarrhea and enteritis in foals.
5011 *Compendium on Continuing education for in Practicing Veterinary, Trenton.*, v.
5012 17, n. 4, p. 568-574, 1995.
- 5013 39. COHEN, N.D. et al. Comparison of polymerase chain reaction and
5014 microbiological culture for detection of salmonellae in equine feces and
5015 environmental samples. *Am J Vet Res.*, v.57, p. 780-786, 1996.
- 5016 40. COWELL, R.L. & TYLER, R.D. Diagnostic cytology and hematology
5017 of the horse, 2.ed., Mosbt, St. louis, 2007. 288p.
- 5018 41. CUMMINGS K.J.; RODRIGUEZ-RIVERA L.D.; MITCHELL K.J.; HOELZER
5019 K.; WIEDMANN M.; McDONOUGH P.L.; et al. *Salmonella enterica* serovar
5020 Oranienburg outbreak in a veterinary medical teaching hospital with evidence of
5021 nosocomial and on-farm transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, v.14., p.
5022 496-502, 2014.
- 5023 42. CUMMINGS, K.J.; PERKINS, G.A.; KHATIBZADEH, S.M; WARNICK,
5024 L.D.; APREA, V.A.; ALTIER, C. Antimicrobial resistance trends among
5025 Salmonella isolates obtained from horses in the northeastern United States
5026 (2001–2013). *American Journal of Veterinary Research.*, v. 77, n. 5, p. 505-513,
5027 2016.

- 5028 43. DALLAP SCHAER B.L.; ACETO H.; RANKIN S.C. Outbreak of salmonellosis
5029 caused by *Salmonella enterica* serovar newport MDR-AmpC in a large animal
5030 veterinary teaching hospital. *J Vet Intern Med.*, v.24, p. 1138-1146, 2010.
- 5031 44. DARGATZ D.A.; TRAUB-DARGATZ J.L. Multidrug-resistant *Salmonella* and
5032 nosocomial infections. *Vet Clin Equine.*, v. 20, p. 587-600, 2004.
- 5033 45. DAVIES P.R.; TURKSON P.K.; FUNK J.A. Comparison of methods fo
5034 isolation *Salmonella* bacteria from faeces of naturally infected pigs. *J. Appl.*
5035 *Microbiol.*, v.89, n.1, p. 169-177, 2000.
- 5036 46. DE LA CRUZ, F.; DAVIES, J. Horizontal gene transfer and the origin of
5037 species: lessons from bacteria. *Trends in microbiology.*, v. 8, n. 3, p. 128–133,
5038 2000.
- 5039 47. DIERIKX C.M.; VAN DUIJKEREN E.; SCHOORMAN A.H.M.; ESSEN-
5040 ZANDBERGEN A.; VELDMAN K.; KANT A.; HUIJSDENS X.W.; VAN
5041 DER ZWALUW K.; WAGENAAR J.A.; MEVIUS D.J. Occurrence and
5042 characteristics of extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC-producing clinical
5043 isolates derived from companion animals and horses. *Journal of Antimicrobial*
5044 *Chemotherapy.*, v. 67, n. 6, p. 1368-1374, 2012.
- 5045 48. DOMINGUEZ J.E.; GUTKIND G.O.; DI CONZA J.A.; MERCADO E.C.
5046 Occurrence of plasmidic AmpC β -lactamase in a *Salmonella* Typhimurium
5047 isolate of equine origin: first report of CMY-2 in animals in Argentina. *J Glob*
5048 *Antimicrob Resist.*, v. 3, p. 315-316, 2015.
- 5049 49. DONAHUE J.M. Emergence of antibiotic-resistant *Salmonella agona* in horses
5050 in Kentucky. *J Am Vet Med Assoc.*, v.188, n.6, p. 592-594, 1986.
- 5051 50. DOR Z.; SHNAIDERMAN-TORBAN A.; KONDRATYEVA K.;
5052 DAVIDOVICH-COHEN M.; ROKNEY A.; STEINMAN A.; NAVON-
5053 VENEZIA. Emergence and spread of diferente ESBL-producing *Salmonella*
5054 *enterica* serovars in hospitalized horses sharing a highly transferable IncM2
5055 CTX-M-3-encoding plasmid. *Frontiers in Microbiology.*, v.11, p.1-11, 2020.
- 5056 51. DOUBLET B. et al., Plasmid-mediated florfenicol and ceftriaxone resistance
5057 encoded by the floR and blaCMY-2 genes in *Salmonella enterica* serovars
5058 Typhimurium and Newport isolated in the United States. *FEMS Microbiology*
5059 *Letters*, v. 233, n. 2, p. 301–305, 2004.
- 5060 52. DUIJKEREN VAN E.; WANNET W.J.B.; HECK M.E.O.C.; VAN PELT W.;
5061 SLOET VAN OLDRUITENBORH-OOSTERBAAN M.M.; SMIT J.A.H.;
5062 HOUWERS D.J. Sero types, phage types and antibiotic susceptibilities
5063 of *Salmonella* strains isolated from horses in The Netherlands from 1993 to
5064 2000. *Vet Microbiol.*, v. 86, p. 203-212, 2002
- 5065 53. DUNKEL B., WILKINS P.A. Infectious foal diarrhoea: pathophysiology,
5066 prevalence and diagnosis. *Equine Veterinary Education.*, v. 16, n.2, p.94-101,
5067 2004.
- 5068 54. DUNOWSKA M.; MORLEY P.S, TRAUB-DARGATZ J.L, DAVIS M.A,
5069 PATTERSON G.; FRYE J.G, et al. Comparison of *salmonella enterica* serotype
5070 infantis isolates from a veterinary teaching hospital. *J Appl Microbiol.*, v.102,
5071 p.1527-1536, 2007.

- 5072 55. DWYER R.M.; POWELL D.G.; ROBERTS D.G.; DONAHUE J.M. A study of
5073 the etiology and control of infectious diarrhea among foals in central Kentucky.
5074 *Proc. Anr Ass. Equine Pract.* P. 337-355, 1990.
- 5075 56. EKIRI A.B.; LONG M.T.; HERNANDEZ J.A. Diagnostic performance and
5076 application of a real-time PCR assay for the detection of Salmonella in fecal
5077 samples collected from hospitalized horses with or without signs of
5078 gastrointestinal tract disease. *Veterinary Journal.*, v. 208, p.28-32, 2016.
- 5079 57. EL-TAYEBA M.A.; IBRAHIMA A.S.S.; AL-SALAMAH A.A.; ALMAARY
5080 K.S.; ELBADAWI Y.B. Prevalence, serotyping and antimicrobials resistance
5081 mechanism of Salmonella enterica isolated from clinical and environmental
5082 samples in Saudi Arabia. *Brazilian Journal of Microbiology.*, v.48, p.499-508,
5083 2017.
- 5084 58. ERNST N.S.; HERNANDEZ J.A.; MACKEY R.J.; BROWN M.P.; GASKIN
5085 J.M.; NGUYEN A.D.; GIGUERE S. COLAHAN P.T.; TROEDSSON M.R.;
5086 HAINES G.R.; ADDISON I.R.; MILLER B.J. Risk factors associated with fecal
5087 Salmonella shedding among hospitalized horses with signs of gastrointestinal
5088 tract disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association.*, v.225,
5089 n.2, p. 275-281, 2004.
- 5090 59. ESPIE E.; WEILL F. Outbreak of multidrug resistant Salmonella Newport due
5091 to the consumption of horsemeat in France. *Eurosurveillance Weekly 2003.*, v. 7,
5092 n.27., 2003.
- 5093 60. ESVAC. European Medicines Agency, Science Medicines Health. European
5094 Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption, 2019. Sales of
5095 veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2017. Trends from
5096 2010 to 2017. 2019. Disponível em: <[https://www.ema.europa.eu/en/veterinary-
5097 regulatory/overview/antimicrobial-resistance/european-surveillance-veterinary-
5098 antimicrobial-consumption-esvac](https://www.ema.europa.eu/en/veterinary-regulatory/overview/antimicrobial-resistance/european-surveillance-veterinary-antimicrobial-consumption-esvac)>Acesso em: 12 nov. 2020.
- 5099 61. EWART S.L.; SCHOTT H.C.; ROBISON R.L.; DWYER R.M.; EBERHART
5100 S.S.; WALKER S.W. Identification of sources of Salmonella organisms in a
5101 veterinary teaching hospital and evaluation of the effects of disinfectants on
5102 detection of Salmonella organisms on surface materials. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*,
5103 v.218, n.7, p. 1145-1151, 2001.
- 5104 62. FERNANDES S. A.; CAMARGO C. H.; FRANCISCO G. R.; BUENO M. F.
5105 C.; GARCIA D. O.; DOI Y.; CASAS M. R. T. Prevalence of Extended-
5106 Spectrum β -Lactamases CTX-M-8 and CTX-M-2-Producing Salmonella
5107 Serotypes from Clinical and Nonhuman Isolates in Brazil. *Microbial Drug
5108 Resistance.*, v. 23, n. 5, p. 580-589, 2016.
- 5109 63. FERRARI R.G.; ROSARIO D.K.A.; CUNHA-NETO A.; MANO S.B.;
5110 FIGUEIREDO E.E.S.; CONTE-JUNIOR C.A. Worldwide Epidemiology
5111 of Salmonella Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. *Appl Environ
5112 Microbiol.*,v.85, n. 14, p.1-21, 2019.
- 5113 64. FERREIRA, RÓGER DINALI. Salmonelose Equina em Minas Gerais. 2019.
5114 42f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

- 5115 65. FIELDING C.L.; MEIER C.A.; MAGDESIAN K.G. PUSTERLA N. Salmonella
5116 spp. fecal shedding detected by real-time PCR in competing. *The Veterinary*
5117 *Journal.*, v.197, n.3, p. 876-879, 2013.
- 5118 66. FLUIT A.D. C.; WIDJOJOATMODJO M.N.; VERHOEF J. Detection of
5119 Salmonella species in fecal samples by immunomagnetic separation and PCR. *J*
5120 *Clin Microbiol.*, v.33, n.4, p. 1046-1047, 1995.
- 5121 67. FLUIT A.D.C.; VISSER M.R.; SCHMITZ F.J. Molecular Detection of
5122 Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews.*, v.14, n.4, p.836-871,
5123 2001.
- 5124 68. FORTES T.P.; FAGUNDES M.Q.; VASCONCELLOS F.A.; TIMM C.D.;
5125 SILVA E.F. Ilhas de patogenicidade de *Salmonella enterica*: uma revisão. *Inst.*
5126 *Adolfo Lutz.*, v.71 n.2, p.219-227, 2012.
- 5127 69. FREDERICK, J. GIGUÈRE S., SANCHES L.C. Infectious Agents detected in
5128 feces of diarrheic foals: a retrospective study of 233 cases (2003-2008). *J.Vet.*
5129 *Intern.Med.*, v.23, p.1244-1260, 2009.
- 5130 70. FREITAS-NETO O.C.; PENHA FILHO R.A.C.; BARROW P.; BERCHIERI
5131 JUNIOR A. Sources of human non-typhoid salmonellosis: a review. *Braz. J. Poult.*
5132 *Sci.* v.12, n.1, p.1-11, 2010.
- 5133 71. FUNK J.A.; DAVIES P.R.; NICHOLS M.A. The effect of fecal sample
5134 weighton detection of Salmonella enterica in swine feces. *J.Vet.Diagn.Invest.*,
5135 v.12, n.5, p. 412-418, 2000.
- 5136 72. GAL-MOR O. Persistent Infection and Long-Term Carriage of Typhoidal and
5137 Nontyphoidal Salmonellae. *Clinical Microbiology.*, v. 32, n.1, p. 1-31, 2019.
- 5138 73. GALVIN, N. & CORLEY K.T.T. Causes of diseases and death from birth to 12
5139 months of age in the Thoroughbred horse in Ireland. *Irish Veterinary Journal.*,
5140 v.63, n.37, p. 37-41, 2010.
- 5141 74. GELAW A.K.; NTHABA P.; MATLE I. Detection of Salmonella from animal
5142 sources in South Africa between 2007 and 2014. *S. Afr. Vet. Assoc.* v.89, p. 1-
5143 10, 2018
- 5144 75. GENTRY-WEEKS C.; HUTCHESON H.J.; KIM L.M.; BOLTE D.; TRAUB-
5145 DARGATZ J.; MORLEY P.; POWERS B.; JESSEN M. Identification of two
5146 pgylogenetically related organisms from feces by PCR for detection of
5147 *Salmonella* spp. *Journal of Cinical Microbiology.*, v.40, p. 1487-0492, 2002.
- 5148 76. GINOCCHIO C. C.; RAHN K.; CLARKE R.C.; GÁLAN J.E. Naturally
5149 occurring deletions in the centisome 63 pathogenicity island of environmental
5150 isolates of Salmonella spp. *Infect. Immun.*, v. 65, p.1267–1272, 1997.
- 5151 77. GRANDOLFO E.; PARISI A.; RICCI A.; LARUSSO E. SIENA R. et al. High
5152 mortality in foals associated with Salmonella enterica subsp. enterica
5153 Abortusequi infection in Italy. *J.Vet.Diagn.Invest.*, v.30, n.3, p. 483-485, 2018.
- 5154 78. GRIMONT P.A.D. E WEILL F. Antigenic Formulae of the Salmonella serovars.
5155 World Health Organization. *Instituto Paster.*, n.9, p.1-167, 2007.
- 5156 79. GUY, J. S.; BRESLIN, J. J.; BREUHAUS, B.; VIVRETTE, S.; SMITH, L. G.
5157 Characterization of a coronavirus isolated from a diarrheic foal. *Journal of*
5158 *Clinical Microbiology.*, p.4523-4526, 2000.

- 5159 80. HAAS, S.D.; BRISTOL, F.; CARD, C.E. Risk factors associated with the
5160 incidence of foal mortality in a managed mare herd. *Can Vet J.*, v.37, p. 91-95,
5161 1996.
- 5162 81. HAMZAH A.M.; KHALEF J.M.; AL-ZUBAIDY A. The Prevalence of Aerobic
5163 Bacteria Isolated from Horses Fecal Samples. *Journal of Biology, Agriculture
5164 and Healthcare.*, v. 3, n.10, p.124-130, 2013.
- 5165 82. HAQ I.; DURRANI A.Z.; KHAN M. S.; MUSHTAQ M.H.; AHMAD I.; KHAN
5166 A.; ALI M. Identification of bacteria from diarrheic foals in Pujab, Pakistan.
5167 *Pakistan J.Zool.*, v.50, p. 381-384-2018.
- 5168 83. HARRIS R.; SANKAR K.; SMALL J.; SUEPAUL R.; STEWARD-JOHNSON
5169 A.; ADESIYUN A. Prevalence and characteristics of enteric pathogens detected
5170 in diarrhoeic and non-diarrhoeic foals in Trinidad. *Veterinary Medicine
5171 International.*, v. 2012, p. 1-12, 2012.
- 5172 84. HARTMANN F.A.; CALLA R.J.; McGUIRK S.M.; WEST S.E.H. Control of an
5173 outbreak of salmonellosis caused by drug-resistant *Salmonella anatum* in horses
5174 at a veterinary hospital and measures to prevent future infections. *J Am Vet Med
5175 Assoc.*, v.209, n.32, p.629-631, 1996.
- 5176 85. HARTMANN F.A.; WEST S.E. Antimicrobial susceptibility profiles of
5177 multidrug-resistant *Salmonella Anatum* isolated from horses. *J Vet Diagn
5178 Invest.*, v. 7, p. 159-161, 1995.
- 5179 86. HARTNACK A.K.; VAN METRE D.C., MORLEY P.S. *Salmonella enterica*
5180 shedding in hospitalized horses and associations with diarrhea occurrence among
5181 their stablemates and gastrointestinal-related illness or death following
5182 discharge. *JAVMA.*, v.240, n.6, p. 726-733, 2012.
- 5183 87. HAYASHI L.K.; SOARES P.N.B.; PELLEGRINI M.M.; SILVA T.B.P.; LIMA
5184 A. E.; MONTEIRO T.K.; CARDOSO M.N.; RONCATI N.V.; QUIRICO I.
5185 Quadro hiperagudo de salmonelose em potro: relato de caso. *Rev. Acad. Ciênc.
5186 Anim.*, v. 15, n.1, p. 345-346, 2017.
- 5187 88. HEID C.A. et al. Real time quantitative PCR. *Genome Res.*, v. 6, n.10, p. 986-
5188 994, 1996.
- 5189 89. HINDERMANN D.; GOPINATH G.; CHASE H.; NEGRETE F.; ALTHAUS
5190 D.; ZURFLUH K.; TALL B.D.; STEPHAN R.; NÜESCH-INDERBINEN.
5191 *Salmonella enterica* serovar *Infantis* from food and human infections,
5192 Switzerland, 2010-2015: Poultry-related multidrug resistant clones and an
5193 emerging ESBL producing clonal lineage. *Front Microbiol.*, v.8, p.1-9, 2013
- 5194 90. HIRD D.W.; PAPPALOU M. SMITH B.P. Case-control study of risk
5195 factors associated with isolation of *Salmonella Saintpaul* in hospitalized horses.
5196 *Am J Epidemiol.*, v.120, n.6, p. 852-864, 1984.
- 5197 91. HOFER E.; ZAMORA M.R.N.; LOPES A.E.; MOURA A.C.M.; ARAUJO
5198 H.L.; LEITE J.D.D.; LEITE M.D.D.; FILHO S.J.S. Sorovares de *Salmonella* em
5199 carne de equídeos abatidos no nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária
5200 Brasileira.*, v.20, p. 80-81, 2000.

- 5201 92. HOLLIS, A.R.; WLKINS, P.A.; PALMER, J.E. et al. Bacteremia in equine
5202 neonatal diarrhea: a retrospective study (1990-2007). *J Vet Intern Med.*, v.22,
5203 p.1203-1209, 2008.
- 5204 93. HOUSE J.K.; MAINAR-JAIME R.C.; SMITH B.P.; HOUSE A.M.; KAMIYA
5205 D.Y. Risk factors for nosocomial Salmonella infection among hospitalized
5206 horses. *J.Am.Med. Ass.*, v.214, n.10, p. 1511-1516, 1999.
- 5207 94. HUGHES, E.A. e GALAN, J.E. Immune Response to Salmonella: Location,
5208 Location, Location? *Immunity.*, v.16, p. 325-328, 2002.
- 5209 95. HURLEY, D.; McCUSTER M.P.; FANNING S.; MARTINS M. Salmonella-
5210 host interactions-modulation of the host innate immune system. *Frontiers in*
5211 *Immunology.*, v.5, p; 1-8, 2014.
- 5212 96. HYATT D.R.; WEESE J.S. Salmonella culture: sampling procedures and
5213 laboratory techniques. *Vet Clin North Am Equine Pract.*, v. 20, n. 3, p. 577-585,
5214 2004.
- 5215 97. IKEDA J.S.; HIRSH D.C. Common plasmid encoding resistance to ampicillin,
5216 chloramphenicol, gentamicin, and trimethoprim-sulfadiazine in two serotypes of
5217 Salmonella isolated during an outbreak of equine salmonellosis. *Am J Vet Res.*,
5218 v.46, n.4, p.769-779, 1985.
- 5219 98. INGRAM P.L. e EDWARDS G.B. Salmonella infections in horses. *Trans.R.*
5220 *Soc. Trop. Med. Hyg.*, v.56, p.74-113, 1980.
- 5221 99. JACOBY G.A. AmpC β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews.*, v. 22, n.1,
5222 p. 161- 182, 2009.
- 5223 100. JAY-RUSSELL M.T.; MADIGAN J.E.; BENGSON Y.; HAKE A.F.;
5224 FOLEY J.E.; BYRNE B.A. Salmonella Oranienburg isolated from horses, wild
5225 turkeys and na edible home Garden fertilized with raw horse manure. *Zoonoses*
5226 *Public. Health.*, v.61, n.1, p. 64-71, 2014.
- 5227 101. JEONG G.L.; CHEONG K.H.; PARK J.M. Method and apparatus for
5228 disrupting cells and amplifying nucleic acids using gold nanorods. *US Patent*,
5229 2011.
- 5230 102. JUFFO G.D.; BASSUINO D.M.; GOMES D.C.; WURSTER F.;
5231 PISSETTI C.; PAVARINI S.P.; DRIEMEIER D. Equine salmonellosis in
5232 Southern Brazil. *Tropical Animal Health Production.*, v.49, p. 1-8, 2016.
- 5233 103. KAUR J.; JAIN S.K. Role of antigens and virulence factors of
5234 Salmonella enterica serovar Typhi in its pathogenesis. *Microbiological*
5235 *Research.*, v.167, p.199-210, 2012.
- 5236 104. KEMP-SYMONDS J.G. Prevalence and Epizootiology of equine
5237 salmonellosis in equids presenting at the quarantine unit of a UK rescue and
5238 welfare charity. *Equine Veterinary Journal.*, v.48, n.50, p.5-30, 2016.
- 5239 105. KIKUCHI N.; KAWAKAMI Y.; MURASE N. et al. Isolation of
5240 Salmonella typhimurium from foals with pyrexia and diarrhea. *Bull Equine Res*
5241 *Inst.*, v.19, p. 43-50, 1982.
- 5242 106. KIM L.M.; MORLEY P.S.; TRAUB-DARGATZ J.L.; SALMAN M.D.;
5243 GENTRY-WEEKS C. Factors associated with Salmonella shedding among

- 5244 equine colic patients at a veterinary teaching hospital. *Journal of the American*
5245 *Veterinary Medical Association.*, v.218, n.5, p.740-748, 2001.
- 5246 107. KUROWSKI P.B.; TRAUB-DARGATZ J.L.; MORLEY P.S.;
5247 GENTRY-WEEKS C.R. Detection of Salmonella spp. in fecal specimens by use
5248 of real-time polymerase chain reaction assay. *AJVR.*, v.63, p. 1265-1268, 2002.
- 5249 108. KWANG J.; LITLEDLIKE E.T.; KEEN J.E. Use of the polymerase
5250 chain reaction of Salmonella detection. *Letter in Applied Microbiology.*, v. 22, p.
5251 46-51, 1996.
- 5252 109. LEON I.M.; LAWHON S.D.; NORMAN K.N.; THREADGILL D.S.;
5253 OHTA N.; SCOTT H.M. Serotype diversity and antimicrobial resistance among
5254 *Salmonella enterica* isolates from patients at na equine referral hospital.
5255 *American Society for Microbiology.*, v.84, p. 1-14, 2018.
- 5256 110. LIN L.H.; TSAI C.Y.; HUNG M.H.; FANG Y.T.; LING Q.D. Rectal
5257 swab sampling followed by an enrichment culture-based real-time PCR assay to
5258 detect Salmonella enterocolitis in children. *Clin Microbiol Infect.*, v.17, p.1421–
5259 1425, 2011.
- 5260 111. LIU, W.; ZHU, X. N.; YU, S.; SHI, X. M. Diversity of Salmonella
5261 isolates using serotyping and multilocus sequence typing. *Food Microbiology*,
5262 Londres, v. 28, n. 6, p. 1182-1189, 2011.
- 5263 112. LOSINGER W.C.; TRAUB-DARGATZ J.L.; GARBER L.P.;
5264 FEDORKA-CRAY P.J.; LADELY S. et al. Factors associated with fecal-
5265 shedding of Salmonella spp. by horses on US operations. *Veterinary Medicine.*
5266 *Arq.Bras.Med.Vet.Zootec.*, v.54, n.2, 2002.
- 5267 113. MAGDESIAN, K.G. Neonatl foal diarrhea. *Vet. Clin.Equine.*, v.21, p.
5268 295-312, 2005.
- 5269 114. MAINAR-JAIME R.C.; ATASHPARVAR N.; CHIRINO-TREJO M.
5270 Estimation of the diagnostic accuracy of invA-gene-based PCR Technique and a
5271 bacteriological culture for the detection of Salmonella spp. in caecal content
5272 from slaughtered pigs using bayesian analysis. *Zoonoses Public Health.*, v.55, p.
5273 112-118, 2008.
- 5274 115. MAINAR-JAIME R.C.; HOUSE J.K.; SMITH B.; HIRD D.W.; HOUSE
5275 A.; KAMIYA D.Y. Influence of fecal shedding of Salmonella organisms
5276 mortality in hospitalized horses. *JAVMA.*, v. 213, p. 1162-1166, 1998.
- 5277 116. MALLICOTE, M.; HOUSE, A.M.; SANCHEZ, L.C. A review of foal
5278 diarrhoea from birth to weaning. *Equine Veterinary Education.*, v.24, n.4, p.206-
5279 214, 2012.
- 5280 117. MALORNY B.; HOOFFAR J. Toward standardization of diagnostic PCR
5281 testing of fecal samples: lessons from the detection of Salmonellae in pigs.
5282 *Journal of Clinical Microbiology.*, v. 43, p. 3033-3037, 2005.
- 5283 118. MALORNY B.; HOOFFAR J.; BUNGE C.; HELMUTH R. Multicenter
5284 validation of analytical accuracy of Salmonella PCR towards an international
5285 standard. *Applied and Environmental Microbiology.*, v. 69, p. 290-296, 2003.
- 5286 119. MARTELLI F.; KIDD S.; LAWES J. Salmonella and salmonellosis in
5287 horses: an overview. *Veterinary Record.*, p. 659-660, 2018.

- 5288 120. MARTELLI F.; KIDD S.; LAWES J. Surveillance for Salmonella in
5289 horses in Great Britain. *Veterinary Record.*, p.56-59, 2019
- 5290 121. MARTÍNEZ-ROJAS D.D.D. β-lactamasas tipo AmpC: generalidades y
5291 métodos para detección fenotípica. *Revista de La Sociedad Venezolana de*
5292 *Microbiología.*, v. 29, p. 78-83, 2009.
- 5293 122. McCAIN C.S. e POWELL K.C. Assyntomatic salmonellosis in healthy
5294 adult horses. *J.Vet. Diagn. Invest.*, v.2, p. 236-237, 1990.
- 5295 123. McMILLAN N.S. The Management of a Multidrug-Resistant
5296 Salmonella Agona Outbreak at Large Animal Teaching Hospital, *Vet. Clin.*
5297 *Equine.* v.84, p. 1-14, 2004.
- 5298 124. McSORLEY, S.J. Immunity to intestinal pathogens:Lessons learned from
5299 Salmonella. *Immunol. Ver.*, v.260, n.1, p. 168-182, 2014.
- 5300 125. MONTEIRO L. et al. Complex polysaccharides as PCR inhibitors in
5301 feces: Helicobacter pylori. *J Clin Microbiol.*, v. 35, n.4, p. 995-998, 1997.
- 5302 126. MOREIRA, N.M.; SOLA, M.C.; FEISTEL, J.C.; OLIVEIRA, J.J.;
5303 FREITAS, F.A. Os mecanismos de Resistencia bacteriana da Salmonella spp.
5304 Frente a utilização de antimicrobianos. *Centro Científico Conhecer.*, v.9, n.6,
5305 p.1131-1153, 2013.
- 5306 127. MORRIS, D.D.; WHITLOCK, R.H.; PALMER, J.E. Fecal leukocytes
5307 and epithelial cells in horses with diarrhea. *Cornell Vet.*, v. 73, p.265-274, 1983.
- 5308 128. MORSE E.V.; DUNCAN M.A.; PAGE E.A.; FESSLER J.F.
5309 Salmonellosis in Equidae: A study of 23 cases. *Cornell Veterinary.*, v.66, p.198-
5310 213, 1976.
- 5311 129. NABERHAUS S.A.; KRULL A.C.; BRADNER L.K. Emergence
5312 of *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:- as the primary serovar identified from
5313 swine clinical samples and development of a multiplex real-time PCR for
5314 improved *Salmonella* serovar-level identification. *Journal of Veterinary*
5315 *Diagnostic Diagnostic Investigation.*, v.31, n. 6, p. 818-827, 2019.
- 5316 130. NETHERWOOD, T.; WOOD, J.L.N.; TOWNSEND, H.G.G.;
5317 MUMFORD, J.A.; CHANTER, N. Foal diarrhoea between 1991 and 1994 in the
5318 United Kingdom associated with *Clostridium perfringens*, rotavirus,
5319 *Strongyloides westeri* e *Cryptosporidium spp.* *Epidemiol. Infect.*, v.117, p. 375-
5320 383, 1996.
- 5321 131. NISHINO, K.; NIKAIDO, E.; YAMAGUCHI, A. Regulation and
5322 physiological function of multidrug efflux pumps in *Escherichia coli* and
5323 *Salmonella*. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1794, 834–843, 2009.
- 5324 132. NORDMANN P.; MAMMERI H. Extended-spectrum cephalosporinases:
5325 structure, detection and epidemiology. *Future Microbiology.*, v.2, p. 297- 307,
5326 2007.
- 5327 133. OIE. World Organization for Animal Health. Annual report on
5328 antimicrobial agentes intended for use in animals. Better Understanding of the
5329 global situation. Third Report. Survey on monitoring the quantities of
5330 antimicrobial agents used in animals in OIE Member Countries. 131p, 2018.

- 5331 Disponível em: < [https://rr-africa.oie.int/wp-](https://rr-africa.oie.int/wp-content/uploads/2019/09/annual_report_amr_3.pdf)
5332 [content/uploads/2019/09/annual_report_amr_3.pdf](https://rr-africa.oie.int/wp-content/uploads/2019/09/annual_report_amr_3.pdf)> Acesso em: 12 nov. 2020.
- 5333 134. OLIVEIRA J.G.; RAMOS C.P.; ROCHA I.A.; MARCELINO S.A.C.;
5334 PIEREZAN F.; PALHARES M.S.; MARANHÃO R.P.A.; SILVA R.O.S.;
5335 TEIXEIRA R.B.C. et al. Meningoencefalite por *Salmonella Typhimurium* em
5336 potro. *Ciência Rural.*, v.49,n.8, 2019.
- 5337 135. OLIVER-SPINOSA, O. Foal Diarrhea Established and Postulated
5338 Causes, Prevention, Diagnostics, and Treatments. *Vet Clin Equine.*, v.34, n.1, p.
5339 55–68, 2018.
- 5340 136. OLIVO G.; LUCAS T.M.; BORGES A.S.; SILVA R.O.S.S.; LOBATO
5341 F.C.F.; SIQUEIRA A.K.; LEITE D.S.; BRANDÃO P.E.; GREGORI F.;
5342 OLIVEIRA-FILHO J.P.; TAKAI S.; RIBERIO M.G. Enteric Pathogens and
5343 Coinfections in Foals with and without Diarrhea. *BioMed Reserach*
5344 *International*, v.2016, p.12, 2016.
- 5345 137. OWNER R.R.; FULLERTON J.; BARNUM D.A. Effects of transport,
5346 surgery and antibiotic therapy in ponies infected with Salmonella. *Am.J. Vet*
5347 *Res.*, v.4, p.46-50, 1980.
- 5348 138. PALMER J.E. e BENSON C.E. Salmonella shedding in the equine.
5349 International Symposium on Salmonella. New Orleans, 1984.
- 5350 139. PALMER J.E. Gastrointestinal diseases of foals. *Veterinary Clinics of*
5351 *North American Equine Practice.*, v.1, p.151-168, 1985,
- 5352 140. PALMER J.E.; WHITLOCK R.H.; BENSON C.E.; BECHT J.L.;
5353 MORRIS D.D.; ACLAND H.M. Comparation of rectal mucosal cultures and
5354 fecal cultures in detection Salmonella infection in horse and cattle. *Am.J.Vet*
5355 *Res.*, v.46, n.3, p. 697-698, 1985.
- 5356 141. PALMER, J.E. Gastrointestinal diseases of foals. *Vet Clin North Am*
5357 *Equine Pract.*, v.1, n.1, p. 151–168, 1985.
- 5358 142. PAN H.; PAUDYAL N.; LI X.; FANG W.; YUE M. Multiple Food-
5359 Animal-Borne Route in Transmission of Antibiotic-
5360 Resistant *Salmonella* Newport to Humans. *Front. Microbiol.*, v.9, p. 1-10, 2018.
- 5361 143. PARADIS, M.R. Equine Neonatal Medicine - A Case-Based Approach.
5362 1.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006, 304p.
- 5363 144. PATERSON D. L.; BONOMO R.A. Extended-spectrum betalactamases:
5364 a clinical update. *Clin Microbiol Ver.*, v.18, n.4, p.657-686, 2005.
- 5365 145. PHAM, O.H.; McSORLEY. Protective host imune responses to
5366 Salmonella infection. *Future Microbiol.*, v.10, p. 101-110, 2015.
- 5367 146. PITOUT J.D.D.; HOSSAIN A.; HANSON N.D. Phenotypic and
5368 molecular detection of CTX-M- β -lactamases produced by Escherichia coli and
5369 Klebsiella spp. *Journal of Clinical Microbiology.*, v.42, p.5715-5721, 2004.
- 5370 147. POWERS R. A. Structural and functional aspects of extended-spectrum
5371 AmpC cephalosporinases. *Current Drug Targets.*, v. 17, n. 9, p. 1051-60, 2016.
- 5372 148. PUSTERLA N.; BYRNE B.A.; HODZIC E.; MAPES S.; JANG S.S.;
5373 MAGDESIAN K.G. Use of quantitative real-time PCR for detection of

- 5374 Salmonella spp. in fecal samples from horses at a veterinary teaching hospital.
5375 *Veterinary Journal.*, v.186, p. 252-255, 2010.
- 5376 149. PUSTERLA N.; BYRNE B.A.; MAPES S.; AKANA N.; WADEMAN
5377 C.; FIELDING L.C.; SLOVIS N.; MAGDESIAN K.G. Investigation of the use
5378 of pooled faecal and environmental samples following an enrichment step for
5379 the detection of Salmonella enterica by real-time PCR. *Vet Rec.*, v.147, n.10, p.
5380 252, 2014.
- 5381 150. QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; LEONARD, F.C.; FITZPATRICK, E.S.;
5382 FANNING, S.; *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2ed. Wiley-
5383 Blackwell, p. 263-292, 2011.
- 5384 151. RAGLE, C.A.; MEAGHER, D.M.; SCHRADER, J.L. et al. Abdominal
5385 auscultation in the detection of experimentally induced gastrointestinal sand
5386 accumulation. *J Vet Intern Med.*, v. 3, p.12-14,1989.
- 5387 152. RAHN K.; DE GRANDIS S.A.; CLARKE R.C.; McEWEN S.A.;
5388 GALÁN J.E.; GINOCCHIO C.; CURTISS R.; GYLES C.L. et al. Amplification
5389 of an invA gene sequence of Salmonella typhimurium by polymerase chain
5390 reaction as a specific method of detection of Salmonella. *Mol Cell Probes.*, v. 6,
5391 p. 271-279, 1992.
- 5392 153. RANKIN S.C.; WHICHARD J.M.; JOYCE K.; STEPHENS L.;
5393 O'SHEA K.; ACETO H.; MUNRO D.S.; BENSON C.E. Detection of a blaSHV
5394 Extended-Spectrum -Lactamase in Salmonella enterica Serovar Newport MDR-
5395 AmpC. *Journal of Clinical Microbiology.*, v. 43, n.11, p. 5792-5793, 2005.
- 5396 154. RAVARY B.; FECTEAU G.; HIGGINS R.; PARÉ J.; LAVOIE J.P.
5397 Prevalence des infections a Salmonella spp. chez les bovins et les equins de
5398 L'hospital veterinaire d'enseignement de la Faculté de médecine vétérinaire de
5399 l'Université de Montréal. *Canadian Veterinary Journal.*, v.39, p.566-572, 1998.
- 5400 155. REED, S.M.; BAYLY, W.M.; SELTON, D.C. *Equine Internal Medicine*.
5401 3.ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2010, 1680p.
- 5402 156. RIBEIRO M.G.; FERNANDES M.C.; PAES A.C.; SIQUEIRA A.K.;
5403 PINTO J.P.A.N.; BORGES A.S. Caracterização de sorovares em linhagens do
5404 gênero Salmonella isoladas de diferentes afecções em animais domésticos.
5405 *Pesquisa Veterinária Brasileira.*, v. 30, p. 155-160, 2010.
- 5406 157. RIVERA D.; ALEEL K.; DUEÑAS F.; TARDONE R.; SOZA P.;
5407 HAMILTON-WEST C.; MORENO-SWITT. Screening the Presence of Non-
5408 Typhoidal Salmonella in Different Animal Systems and the Assessment of
5409 Antimicrobial Resistance., *Animals.*, v. 11, p. 1-15, 2021.
- 5410 158. ROBERTS M.C. e O'BOYLE A.O. The prevalence and epizootiology of
5411 salmonellosis among groups of horses in South East Queensland. *Australian*
5412 *Veterinary Journal.*, v. 57, p. 27-35, 1981.
- 5413 159. ROBINSON, N. E. *Current therapy in equine medicine*. 5.ed.
5414 Philadelphia: W. B. Saunders, 2002. 960p.
- 5415 160. ROSTAGNO M.H.; GAILEY K.K.; HURD H.S. et al. Culture methods
5416 differ on the isolation of Salmonella enterica serotypes from naturally

- 5417 contaminated swine fecal samples. *J.Vet. Diagn. Invest.*, v.17, n.1, p. 80-83,
5418 2005.
- 5419 161. SANCHEZ, L. C.; LESTER, G. D.; MERRIT, A. M. Effect of ranitidine
5420 on intragastric pH in clinically normal neonatal foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.
5421 212, n. 9, p. 1407-1412, 1998.
- 5422 162. SANTIAGO G.S.; DA MOTTA C.C.; BRONZATO G.F.;
5423 GONÇALVES D.; DE SOUZA MILIANE M.S.; COELHO I.S.; FERREIRA
5424 H.N.; COELHO S.M.O. Revisão: Produção de β -lactamases do Tipo AmpC em
5425 Enterobacteriaceae. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.38, n. 3, p.17-30, 2016.
- 5426 163. SANTOS R.L.; TSOLIS, R.M.; BÄUMLER A.J.; ADAMS L.G.
5427 Pathogenesis of Salmonella-induced enteritis. *Braz J Med Biol Res.*, v. 36, n.1,
5428 p. 3-12, 2003.
- 5429 164. SCHOTT H.C.; EWART S.L.; WALKER R.D.; DWYER R.M.;
5430 DIETRICH S.; EBERHART S.W. et al. An outbreak of salmonellosis among
5431 horses at a veterinary teaching hospital. *J Am Vet Med Assoc.*, v. 218, p. 1152-
5432 1159, 2001.
- 5433 165. SCHRANK I.S.; MORES, M.A.Z.; COSTA, J.C.A. Influence of
5434 enrichment media and application of a PCR based method to detect Salmonella
5435 in poultry industry products and clinical samples. *Vet. Microbiol.*, v.82, p.45-53,
5436 2001.
- 5437 166. SELTON, D.C.; LONG, M.T. Equine Infectious Diseases. 1ed. St. Louis,
5438 Missouri: Saunders Elsevier, 2007, 672p.
- 5439 167. SHAH A.A.; HASAN F.; AHMED S. Characteristics, epidemiology and
5440 clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing
5441 extended-spectrum beta-lactamases. *Res Microbiol.*, v.155, n.6, p. 409-421,
5442 2004.
- 5443 168. SIBLEY J.; YUE B.; HUANG F.; HARDING J. Comparison of
5444 bacterial enriched-broth culture, enzyme linked immunosorbent assay, and broth
5445 culture-polymerase chain reaction techniques for identifying asymptomatic
5446 infections with Salmonella in swine. *Canadian Journal of Veterinary Research.*,
5447 v. 67, p. 219-224, 2003.
- 5448 169. SINGH B. J.; JYOTI, J.; CHANDRA M.; BABU N.; SHARMA, G. Drug
5449 resistance patterns of Salmonella isolates of equine origin from India. *J Infect*
5450 *Dev Ctries.*, v. 3, n.2, p. 141-147, 2009.
- 5451 170. SINGH B.R.; BABU N.; JYOTI J.; SHANKAR H.; VIJO T.V.;
5452 AGRAWAL R.K.; CHANDRA M.; KUMAR D.; TEEWARI A. Prevalence of
5453 Multi-Drug-Resistant Salmonella in Equids Maintained by Low Income
5454 Individuals and on Designated Equine Farms in India. *Journal of Equine*
5455 *Veterinary Science.*, v.27, n.6, p. 266-276, 2007.
- 5456 171. SLOVIS, N.M. Biosecurity of Horse Farms. In: Proceeding, World
5457 Equine Veterinary Association - International Congress, 2019, Verona, 2019. p.
5458 251-258.

- 5459 172. SLOVIS, N.M. Prevention and Outbreak Management of Foal Diarrhea.
5460 In: Proceeding, World Equine Veterinary Association - International Congress,
5461 2019, Verona, 2019. p. 271-281.
- 5462 173. SLOVIS, N.M., ELAM, J., ESTRADA, M.; LEUTENEGGER M.
5463 Infectious agents associated with diarrhea in neonatal foals in central Kentucky:
5464 a comprehensive molecular study. *Equine Vet. J.* v.46, p.311-316, 2014.
- 5465 174. SMITH, B.P. Large animal internal medicine. 4.ed. St Louis: Mosby
5466 Elsevier, 2008, 1856p.
- 5467 175. SMITH, B.P. Salmonella infection in horses. *Compend Cont Educ Pract*
5468 *Vet.* v. 3, p.4-17, 1981.
- 5469 176. SORIA M.C.; SORIA M.A.; BUENO D.J. Comparison of 2 culture
5470 methods assays for Salmonella detection in poultry feces. *Poultry Science.*,v.91,
5471 p. 616-626, 2012.
- 5472 177. SOUZA A. I. S.; SARAIVA M.M.S.; CASA M.R.T.; OLIVEIRA G.M.;
5473 CARDOZO M.V.; BENEVIDES V.P.; BARBOSA F.O.; NETO O.C.F.;
5474 ALMEIDA A.M.; JUNIOR A.B. High occurrence of β - lactamase-producing
5475 Salmonella Heidelberg from poultry origin. *Plos One.*, p.1-11, 2020.
- 5476 178. SOYER Y.; MORENO A. S.; DAVIS M.A.; MAURER J.P.;
5477 McDONOUGH L.D.; SCHOONMAKER-BOPP J.; DUMAS N.B.; ROOT T.;
5478 WARNICK D.; GRÖHN Y.T.; WIEDMANN M. Salmonella enterica Serotype
5479 4,5,12:i:-, an Emerging Salmonella Serotype That Represents Multiple Distinct
5480 Clones. *Journal of Clinical Microbiology.*, v.47, n.11, P. 3546–3556, 2020.
- 5481 179. SOZA-OSSANDON P.; RIVERA D.; TARDONE R.; RIQUELME-
5482 NEIRA R. GARCÍA P.; HAMILTON-WEST C.; ADELL A.D.; GONZÁLEZ-
5483 ROCHA G.; MORENO-SWITT A.I. Widespread Environmental Presence of
5484 Multidrug-Resistant *Salmonella* in an Equine Veterinary Hospital That Received
5485 Local and International Horses. *Front. Vet. Sci.*, v.7, p.1-9, 2020.
- 5486 180. SPIER S. J. Salmonellosis. *Veterinary Clinics of North America: Equine*
5487 *Practice, Philadelphia.*, v. 9, n. 2, p. 385-397, 1993.
- 5488 181. STEWART, M.C.; HODGSON, J.L., KIM, H. et al. Acute febrile
5489 diarrhoea in horses: 86 cases (1986-1991). *Aust Vet J.*, v. 72, p.41-44, 1995.
- 5490 182. STONE G.G. et al. Detection of Salmonella serovars from clinical
5491 samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure. *J Clin Microbiol.*,
5492 v.32, n.7, p. 1742-1749, 1994.
- 5493 183. STUART B.P.; MARTIN B.R.; WILLIAMS L.P. et al. Salmonella
5494 induced meningoencephalitis in a foal. *J Am Vet Med Assoc.*, v. 162, p. 211-213,
5495 1973.
- 5496 184. TAVECHIO A.T.; GUILARDI C.R.; FERNANDES S.Q. Identificação
5497 por "Multiplex PCR" do sorovar monofásico e atípico Salmonella enterica subsp.
5498 enterica sorovar 1,4,[5],12:i:-, no Estado de São Paulo, Brasil: frequência e resistência
5499 antimicrobiana. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* v. 46, n.2, p.115-117, 2004.
- 5500 185. THOMSON K.S. Controversies about Extended-Spectrum and AmpC β -
5501 Lactamases. *Emerging Infectious Diseases.*, v.7, p. 333-336, 2001.

- 5502 186. TILLOTSON K.; SAVAGE C.J.; SALMAN M.D.; GENTRY-WEEKS
5503 C.R.; RICE D.; FEDORKA -CRAY P.J. et al. Outbreak of Salmonella infantis
5504 in a large animal veterinary teaching hospital. *J Am Vet Med Assoc.*, v.211, n.
5505 12, p. 1554-1557, 1997.
- 5506 187. TILLOTSON, K.; TRAUB-DARGATZ, J.L.; DICKINSON, C.E. et al.
5507 Population based study of fecal shedding of Clostridium perfringens in
5508 broodmares and foals. *J. Am. Vet Med Assoc.*, v. 220, p.342-348, 2002.
- 5509 188. TRAUB-DARGATZ J.L.; GARBER L.P.; FEDORKA-CRAY P.J.;
5510 LADELY S.; FERRIS K. Fecal shedding of Salmonella spp. by horses in the
5511 United States during 1998 and 1999 and detection of Salmonella spp. in grain
5512 and concentrate sources on equine operations *JAVMA*,v. 217, p.226-230, 2000.
- 5513 189. TRAUB-DARGATZ J.L.; SALMAN M.D.; JONES R.L.
5514 1990: Epidemiologic study of Salmonellae shedding in the feces of horses and
5515 potential risk factors for development of the infection in hospitalized horses. *J.*
5516 *Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 196, p.1617-1622, 1990.
- 5517 190. TRAUB-DARGATZ, J.L.; DARGATZ D.A. Antibacterial drug
5518 resistance and equine practice. *Equine Veterinary Education.*, v. 21, p. 49-56,
5519 2009.
- 5520 191. USDA APHIS. Department of Agriculture. Centers for Epidemiology
5521 and Animal Health. What veterinarians and producers should know about multi-
5522 drug resistant Salmonella Newport, info sheet. Fort Collins, CO: US. 5p, 2003.
5523 Disponível em:
5524 <[https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/general/downloads/Snewpor](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/general/downloads/Snewport.pdf)
5525 [t.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/general/downloads/Snewport.pdf)> Acesso em 12 nov, 2020.
- 5526 192. USDA APHIS. 2006. United States Department of Agriculture Animal
5527 and Plant Health Inspection Service Veterinary. Services National Animal
5528 Health Monitoring System (NAHMS). November 2006. Equine 2005, Part I:
5529 Baseline Reference of Equine Health and Management. 3p, 2005. Disponível
5530 em: <
5531 [https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/equine/downloads/equine05/E](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/equine/downloads/equine05/Equine05_is_PartI_Highlights.pdf)
5532 [quine05_is_PartI_Highlights.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/equine/downloads/equine05/Equine05_is_PartI_Highlights.pdf)>Acesso em 12 nov, 2020.
- 5533 193. USDA APHIS. United States Department of Agriculture Animal and
5534 Plant Health. Inspection Service Veterinary Services. National Animal Health
5535 Monitoring System (NAHMS). Antimicrobial Use and Stewardship on U.S
5536 Feedlots. 81p, 2019. Disponível em <
5537 [https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/amr/downloads/amu-](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/amr/downloads/amu-feedlots_1.pdf)
5538 [feedlots_1.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/amr/downloads/amu-feedlots_1.pdf)>Acesso em 12 nov, 2020.
- 5539 194. VAN DUIJKEREN E.; FLEMMING C.; VAN OLDRUITENBORGH-
5540 OOSTERBAA S.; KALSBECK H.C.; VAN DER GIESSEN J.W.B. Diagnosing
5541 Salmonellosis in Horses. Culturing of multiple versus single sample faecal
5542 samples. *Veterinary Quartely.*, v.17, p. 63-66, 1995.
- 5543 195. VAN DUIJKEREN E.; WANNET W.J.B.; HECK M.E.O.C.; VAN
5544 PELT W.; SLOET VAN OLDRUITENBORH-OOSTERBAAN M.M.; SMIT
5545 J.A.H.; HOUWERS D.J. Sero types, phage types and antibiotic susceptibilities

- 5546 of Salmonella strains isolated from horses in The Netherlands from 1993 to
5547 2000. *Vet Microbiol.*, v. 86, p. 203-212, 2002.
- 5548 196. VETRO WIDENHOUSE T.S. Equine salmonellosis—molecular
5549 epidemiology of clinical isolates and the effect of antibiotics on the cecal
5550 microenvironment with particular reference to short-chain fatty acids and
5551 the Salmonella plasmid virulence (spv) genes. 2004.150f. Tese (Doutorado)-
5552 University of Florida, Gainesville.
- 5553 197. VIEIRA, M.A.M. Ilhas de Patogenicidade. *O Mundo da Saúde.*, v.33,
5554 n.4, p. 406-414, 2009.
- 5555 198. VOOGT N.; NAGELKERKE N.J.D.; VAN DE GIESSEN A.W.
5556 Differences between reference laboratories of the European Community in their
5557 ability to detect Salmonella species. *Eur.J.Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v.21, n.6,
5558 p. 449-454, 2002.
- 5559 199. WALKER R.L.; MADIGAN J.E.; HIRD D.W.; CASE J.T.;
5560 VILLANUEVA M.R.; BOGENRIEF D.S. Na outbreak of equine neonatal
5561 salmonellosis. *J.Vet. Diagn. Invest.*, v.3, p. 223-227, 1991.
- 5562 200. WALKER R.L.; PERALTA T.L.; VILLANUEVA M.R.; SNIPES K.P.;
5563 MADIGAN J.E.; HIRD D.W.; KASTEN R.W. Genotypic and phenotypic
5564 analysis of Salmonella associated with na outbreak of equine neonal
5565 salmonellosis. *Veterinary Microbiology.*, v.43, p.143-150, 1995.
- 5566 201. WALTMAN W.D.; HORNE A.M.; PIRKLE C. Influence of enrichment
5567 incubation time on the isolation of Salmonella. *Avian Disease.*, v.37, p. 884-887,
5568 1993.
- 5569 202. WARD M.P.; ALINOVI C.A.; COUETIL L.L.; WU C.C. Evaluation of a
5570 PCR to detect Salmonella in fecal samples of horses admitted to a veterinary
5571 teaching hospital. *J Vet Diagn Invest.*, v. 17, p.118–123, 2005.
- 5572 203. WARD M.P.; BRADY T.H.; COUËTIL L.L.; LILJEBJELKE K.;
5573 MAURER J.J.; CHING C.W. Investigation and control of an outbreak of
5574 salmonellosis caused by multidrug-resistant Salmonella Typhimurium in a
5575 population of hospitalized horses. *Vet Microbiol.*, v.107, p. 233-240, 2005.
- 5576 204. WEESE J.S. Antimicrobial therapy for multidrug resistant pathogens.
5577 *Equine Veterinary Education.*, v. 21, p. 328–334, 2009.
- 5578 205. WENKOFF M.S. A review and case report: *Salmonella* typhimurium
5579 septicemia in foals. *Can Vet J.*, v.14, p.284-287, 1973.
- 5580 206. WILKINS W.; WALDNER C.; RAJIC A.; McFALL M.; MUCKLE A.;
5581 MAINAR-JAIME C. Comparison of bacterial culture and real-time PCR for the
5582 detection of *Salmonella* in grow-finish pigs in western Canada using a bayesian
5583 approach. *Zoonoses Public Health.*, v.57, p. 115-120. 2010.
- 5584 207. WILSON I.G. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification.
5585 *Appl Environ Microbiol.*, v.63, n.10, p. 3741-3751, 1997.
- 5586 208. WINDSOR R.C.; JOHNSON L.R.; SYKES J.E.; DRAZENOVICH T.L.;
5587 LEUTENEGGER C.M.; COCK H.E.V. Molecular detection of microbes in
5588 nasal tissue of dogs with idiopathic lymphoplasmacytic rhinitis. *J.Vet.Inter. Med.*,
5589 v.20, p. 250-256, 2006.

- 5590 209. WOHLFENDER F.D.; BARRELET F.; DOHERR M.G.; STRAUB R.
5591 Diseases in neonatal foals. Part 1. The 30 day incidence of disease and effect of
5592 prophylactic antimicrobial drug treatment during the first three days post
5593 partum. *Equine Veterinary Journal.*, v.41, p. 179-185, 2009.
- 5594 210. WRAY C. e WRAY A. Salmonella in domestic animals. CABI
5595 Publishing, Wallingford and New York, 2000, 400 p., 2000.
- 5596 211. WRAY C.; SOJKA W.J.; BELL J.C. Salmonella infection in horses in
5597 England and Wales, 1973-1979. *Vet Rec.*, v31, n.18, p. 398-401, 1981.
- 5598 212. ZIECH R.E.; LAPUGNANI C.; PERIN A.P.; SERENO M.J.;
5599 SFACIOTTE R.A.P.; VIANA C.; SOARES V.M.; PINTO J.P.A.N.; BERSOT
5600 L.S. Multidrug resistance and ESBL-producing *Salmonella* spp. isolated from broiler
5601 processing plants. *Food Microbiology.*, v. 47, n.1, p.191-195, 2016.
- 5602 213. ZIMMEL, D. Neonatal foal diarrhea. *Proceeding AAEP Annual*
5603 *Convention.* p.207-213, 2008.