



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE
PÚBLICA NOS TRÓPICOS

ISAURA MARIA MADEIRA NUNES

**PREVALÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE
ESCHERICHIA COLI DIARREIOGÊNICA E *SALMONELLA* SPP. EM
EQUINOS NO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA-TO.**

Araguaína (TO)

2018

ISAURA MARIA MADEIRA NUNES

**PREVALÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE
ESCHERICHIA COLI DIARREIOGÊNICA E *SALMONELLA* SPP. EM
EQUINOS NO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA-TO.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, junto ao Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos da Universidade Federal do Tocantins.

Área de concentração: Sanidade animal e Saúde Pública

Orientador: Prof. Dr. Marco Augusto Giannoccaro da Silva

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Silvia Minharro Barbosa

Araguaína (TO)

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

N972p Nunes, Isaura.

Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em equinos no município de Araguaína-TO. / Isaura Nunes.
– Araguaína, TO, 2018.

56 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado)
em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2018.

Orientador: Marco Augusto Giannoccaro da Silva

Coorientadora : Silvia Minharro Barbosa

1. Enterobactérias. 2. Clínica médica de equinos. 3. Zoonoses. 4.
Susceptibilidade antimicrobiana. I. Título

CDD 636.089

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

ISAURA MARIA MADEIRA NUNES

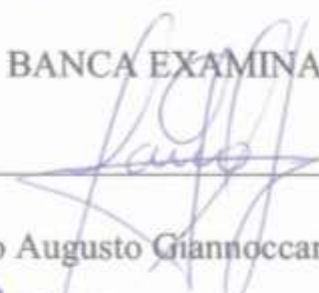
PREVALÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE
ESCHERICHIA COLI DIARREIOGÊNICA E *SALMONELLA* SPP. EM
EQUINOS NO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA-TO.

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre, junto ao
Programa de Pós-graduação em Sanidade
Animal e Saúde Pública nos Trópicos da
Universidade Federal do Tocantins.

Orientador: Prof. Dr. Marco Augusto
Giannoccaro da Silva

Aprovada em: 27/02/2018.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Marco Augusto Giannoccaro da Silva (Orientador)



Prof. Dr. Katyane de Sousa Almeida (UFT)



Prof. Dr. Thássia Silva Reis (UFT)

Ao Senhor pelo dom da vida e por tudo que me concedeu até aqui e à minha família pelo amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor por me guiar e conceder mais essa realização na minha vida.

Ao meu esposo Domingos pelo apoio, amor e compreensão.

Aos meus filhos Davi e Daniel por ser fonte de amor e carinho inesgotáveis.

Aos meus pais (Romão e Maria José), irmãs (Ismaely e Isadora) e avós (Marcelino e Socorro) pela torcida, apoio e amor dedicados.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marco Augusto Giannoccaro da Silva pela acolhida, paciência, ajuda e ensinamentos compartilhados.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Silvia Minharro Barbosa pela sua contribuição de grande valia para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao professor Dr. Michel José Sales Abdalla Helayel pela oportunidade, receptividade e conhecimentos compartilhados.

Aos demais professores do programa pelo empenho e dedicação à nossa turma.

Aos meus caríssimos e prezados colegas de turma (Alessandro, Cirlene, Fabiana, Helane, Juliana e Osmar) pelo convívio, troca de conhecimentos e experiências vividas.

À técnica responsável pelo laboratório de microbiologia Cristiane Alves e a doutoranda Karina Maciel pelos conhecimentos compartilhados e amizade.

À CAPES pelo apoio financeiro de suma importância para o desenvolvimento desta pesquisa.

“Entrega o teu caminho ao Senhor; confia nele, e ele o fará”.

Provérbios 37:5

RESUMO

Os equinos possuem estreita relação com o ser humano, sendo utilizados nas mais diversas atividades. Com isso, torna-se essencial o conhecimento das afecções que acometem esta espécie e, sobretudo, as que apresentam potencial zoonótico. As bactérias da família Enterobacteriaceae são gram-negativas, tendo como principais agentes *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, que são patógenos comuns a vários animais e ao ser humano sendo, portanto, temas de relevância em saúde pública e animal em todo o mundo. Por isso, esse estudo se mostra de suma importância para a compreensão da epidemiologia destes agentes na saúde equina e humana bem como no reconhecimento de resistência bacteriana e susceptibilidade antimicrobiana. Tendo em vista a escassez de trabalhos publicados no Brasil quanto a situação da *E. coli* e *Salmonella* spp. na espécie equina, com esse trabalho objetivou-se verificar a prevalência desses agentes em equinos da cidade Araguaína bem como verificar a susceptibilidade dos mesmos a diferentes antimicrobianos. Foram coletadas fezes da ampola retal de 72 cavalos clinicamente sadios e realizou-se isolamento bacteriano iniciando-se com enriquecimento em caldo seletivo, seguindo-se com plaqueamento em meio semi-sólido, provas bioquímicas e soroaglutinação. Após confirmação, realizou-se o teste de susceptibilidade antimicrobiana frente aos principais antibióticos utilizados na terapia humana e veterinária. A prevalência encontrada neste estudo para *E.coli* diarreio gênica e *Salmonella* spp. foi de 47,06% e 4,17%, respectivamente. Quanto à susceptibilidade antimicrobiana, a ciprofloxacina foi a mais eficiente para ambos os agentes, seguida do meropenem (*E.coli*) e sulfa/trimetropim (*Salmonella* spp.). Conclui-se que os equinos avaliados podem ser portadores assintomáticos de *Salmonella* spp. e albergar cepas patogênicas de *E. coli* e, que a identificação do agente bem como a realização do antibiograma é fundamental para a instituição de medidas profiláticas e de terapêutica adequada, respectivamente.

Palavras- chave: Enterobactérias, Isolamento bacteriano, Zoonose, Cavalos.

ABSTRACT

Equines are closely related to humans, being used in many different activities. With this, it is essential to know the affections that affect this species and, especially, those with zoonotic potential. The bacteria of the family Enterobacteriaceae are gram-negative, having as main agents *Salmonella* spp. and *Escherichia coli*, which are pathogens common to several animals and to humans, and are therefore of relevance in public and animal health throughout the world. Therefore, this study is extremely important for understanding the epidemiology of these agents in equine and human health as well as in the recognition of bacterial resistance and antimicrobial susceptibility. In view of the scarcity of studies published in Brazil regarding the situation of *E. coli* and *Salmonella* spp. in the equine species, this work aimed to verify the prevalence of these agents in horses of Araguaína city as well as verify their susceptibility to different antimicrobials. Feces were collected from the rectal ampulla of 72 healthy horses and bacterial isolation was performed, starting with selective broth enrichment, followed by plating in semi-solid medium, biochemical tests and serum agglutination. After confirmation, the antimicrobial susceptibility test was carried out against the main antibiotics used in human and veterinary therapy. The prevalence found in this study for diarrheogenic *E.coli* and *Salmonella* spp. was 47.06% and 4.17%, respectively. As for antimicrobial susceptibility, ciprofloxacin was the most efficient for both agents, followed by meropenem (*E.coli*) and sulfa / trimetropim (*Salmonella* spp.). It is concluded that the horses evaluated can be asymptomatic carriers of *Salmonella* spp. and harbor pathogenic strains of *E. coli*, and that the identification of the agent as well as the performance of the antibiogram is fundamental for the institution of prophylactic measures and appropriate therapy, respectively.

Keywords: Enterobacteria, Bacterial isolation, Zoonosis, Horses

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Prevalência de *E. coli* diarreiogênica em equinos no município de Araguaína.....40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Resultado das provas bioquímicas para <i>E. coli</i>	40
----------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS

BHI - Brain Heart Infusion

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CEUA - Comitê de Ética de Uso de Animais

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

E. coli - *Escherichia coli*

EHEC – *Escherichia coli* enterohemorrágica

EIEC - *Escherichia coli* enteroinvasora

EPEC - *Escherichia coli* enteropatogênica

ETEC - *Escherichia coli* enterotoxigênica

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Laborclin - Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica

LPS – lipopolissacarídeo

MC - MacConkey

mL - mililitro

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratories Standards

PBS - Phosphate Buffered Saline

SS - Salmonella-Shigella

TO – Tocantins

TSA - Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

β - beta

$^{\circ}\text{C}$ - graus Celsius

μg - micrograma

μm - micrômetro

mL - mililitro

mm - milímetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
	2.1. O cavalo	18
	2.2. Enterobactérias	19
	2.2.1. Isolamento de Enterobactérias	19
	2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	21
	2.2.3. <i>Salmonella</i> spp.	23
	2.4. Susceptibilidade antimicrobiana	25
	2.5. Prevenção e controle	25
3	OBJETIVOS	27
	3. 1. Gerais:	27
	3. 2. Específicos:	27
	REFERÊNCIAS	28
	CAPITULO II	33
	Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> diarreiogênica em equinos no município de Araguaína-TO.	33
	Resumo	34
	Abstract	34
	Introdução	35
	Material e Métodos	36
	Delineamento experimental e Análise estatística	36
	Resultados e Discussão	39
	Conclusão	42
	Referências	42
	CAPITULO III	45
	Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de <i>Salmonella</i> spp. em equinos no município de Araguaína-TO.	45
	Resumo	46
	Abstract	47

Introdução	47
Material e Métodos	49
Delineamento experimental e Análise estatística	49
Resultados e Discussão	52
Conclusão	54
Referências	54

CAPITULO I
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, o Brasil possui o quarto maior rebanho de equinos do mundo, com 5,3 milhões de cabeças. Destas, aproximadamente 756 mil estão distribuídas na região Norte do país, sendo que 195.698 mil localizadas no Estado do Tocantins (BRASIL, 2012). Nesta região, além do uso na lida com o gado, os equinos são muito utilizados no transporte urbano, na tração e em competições equestres, o que exige um aperfeiçoamento constante dos profissionais envolvidos, principalmente do clínico veterinário, de quem se espera uma presteza nos meios de prevenção, diagnóstico e tratamento das enfermidades.

Dentre os problemas que afetam os equinos, os relacionados ao trato gastrointestinal são um dos mais importantes (TRAUB-DARGATZ et al., 2000), sendo que a diarreia está entre as principais causas de óbitos na espécie, mesmo que meios para diagnosticá-la, monitorá-la e tratá-la tenham tido avanços consideráveis (FEARY e HASSEL, 2006). *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* estão entre os principais patógenos que levam ao desenvolvimento deste quadro (MEIRELLES et al., 2008; OLIVO, 2013).

O intestino grosso dos equinos é uma enorme câmara de fermentação que contém uma quantidade abundante de microrganismos anaeróbios. A composição e a atividade dessa microfauna na qual incluem basicamente bactérias, fungos e protozoários, tem um papel importante na saúde, no crescimento, no desenvolvimento e no desempenho de cavalos (BERGMAN, 1990; DALY et al., 2001). Essa fauna comensal deve competir com agentes patogênicos, para que haja equilíbrio e não prejuízos à saúde do animal. Porém, esse equilíbrio fundamental pode ser interrompido em inúmeras circunstâncias (CHAPMAN, 2006) e, conseqüentemente, enfermidades podem ser desencadeadas.

Diversos autores (GREENE, 2006; RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007; RIBEIRO et al., 2010; SANTOS, 2010) vem relatando que a *Salmonella* spp. pode ser encontrada na microbiota fecal dos animais domésticos, apresentando estes ou não manifestações entéricas. McKenzie e Mair (2013) referiram que cavalos não são considerados portadores destas bactérias, porém, a taxa de excreção da mesma identificada em animais recebidos em hospitais veterinários (sem sintomatologia) variou de 6 a 13% (PALMER et al., 1985; TRAUB-DARGATZ et al., 1990; COHEN et al., 1995; MAINAR-JAIME et al., 1998; KIM et al., 2001; ERNST et al., 2004; WARD et

al., 2005). Por outro lado, Cohen et al., (1995); Ernst et al., (2004) e Ward et al., (2005) encontraram aumento da quantidade de salmonela excretada nas fezes de cavalos que apresentavam dor abdominal, sugerindo que essa bactéria é habitante comum do trato gastrointestinal de equinos, que por sua vez, eliminam geralmente pouca quantidade do agente pelas fezes, a não ser que haja uma doença abdominal concomitante.

Os animais que não apresentam sintomatologia clínica arrolam papel importante na disseminação do agente (GREENE, 2006; RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007) e na transmissão de enfermidades (SANTOS, 2010), uma vez que liberam no ambiente o microrganismo de forma intermitente (GREENE, 2006; RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007). RIBEIRO et al., (2010) afirmou que o agente em questão exerce seu efeito patogênico de maneira oportunista, quando fatores pré-disponentes e ou quadros de imunossupressão estão presentes nos criatórios.

O gênero *Salmonella* pode ser dividido em duas grandes espécies a saber: *Salmonella bongori* e *Salmonella entérica*. Nessa, estão inseridas as principais subespécies e sorotipos patogênicos para animais e seres humanos. *Salmonella* spp. possui mais de 2500 sorovares onde diversos destes são associados a infecções em animais e humanos, responsáveis por altas taxas de morbidade em todo o mundo e altos índices de mortalidade principalmente em países subdesenvolvidos (SANCHEZ-VARGAS et al., 2011).

A salmonelose em animais, usualmente, é desencadeada pela ingestão de água e alimento contaminados por fezes de animais infectados (RIET-CORREA et al., 2001; GREENE, 2006; BARROS, 2007; RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007; RIBEIRO et al., 2010; LUCAS, 2012), podendo esses estarem clinicamente doentes ou não apresentarem qualquer sintomatologia (portadores). Ainda, o hábito errôneo de ingerir fezes (coprofagia), adotado principalmente por potros (GREENE, 2006; RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007) é outra causa comum do problema. O contato com superfícies ambientais contaminadas, equipamentos, manipuladores de animais doentes, contato direto com animais que eliminam as bactérias e a ingestão de fezes de pássaros contaminadas ou insetos mortos também estão dentre as maneiras dos equinos contraírem o agente (TRAUB-DARGATZ et al., 2000). Vale ressaltar, que qualquer espécie de mamífero e ave, doméstica ou selvagem, pode agir como fonte de infecção (RIET-CORREA et al., 2001).

As infecções pelo gênero *Salmonella* em animais de produção e de companhia estão relacionadas com distúrbios entéricos e extra-entericos (RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007), sendo reconhecidas basicamente quatro tipos de manifestações: 1) infecções inaparentes com estados de portador latente ou ativo; 2) depressão, febre e anorexia, sem diarreia ou cólica; 3) enterocolite fulminante ou superaguda com diarreia; 4) septicemia. O maior risco para o desenvolvimento de bacteremia e sepse em animais são relacionados com *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium (MAGDESIAN, 2005).

Em equinos, surtos de salmonelose afetam negativamente o bem-estar do animal, bem como proporciona prejuízos econômicos para o proprietário. As infecções podem acometer cavalos de qualquer idade e variam em gravidade, podendo ocorrer desde colonização assintomática até doença sistêmica grave. A forma mais comum é a da enterocolite aguda, com diarreia copiosa, porém as infecções de tecidos moles e bacteremia podem acontecer (MCKENZIE e MAIR, 2013).

O gênero *Salmonella* é tido como de grande preocupação no contexto da saúde pública, pois casos e surtos de infecções e toxinfecções ocasionadas pelo consumo por humanos de alimentos contaminados já foram descritos (WRAY e WRAY, 2000).

E. coli, por sua vez, é a principal representante da família Enterobacteriaceae e possui diferentes fatores de virulência (ACHA e SZYFRES, 2001; QUINN et al., 2005; TRABULSI et al., 2005). Poucas linhagens são patogênicas e estas são classificadas levando-se em consideração a produção de fatores de virulências, que determinarão o tipo de infecção que irá ocorrer (intra ou extra-intestinal) (GYLES et al., 2010), sendo os distúrbios entéricos, os mais comuns (GREENE, 2006; RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007).

As linhagens relacionadas ao desenvolvimento de diarreia em animais estão distribuídas em seis classes: as enterotoxigênicas (ETEC), enteropatogênicas (EPEC), enteroinvasivas (EIEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteroagregativas (EAEC) e aderência difusa (DAEC) (TRABULSI et al., 2005). As mais importantes nos animais são a *E.coli* enterotoxigênica e a enteropatogênica (TRABULSI et al., 2005), sendo importante a identificação das linhagens para se diferenciar as patogênicas das não patogênicas e, para investigações epidemiológicas (GYLES et al., 2010).

Gyles et al. (2010) afirmaram que o agente é isolado facilmente de fezes de animais com ou sem diarreia e que a severidade clínica é dependente da presença de fatores de virulência, responsáveis por determinar o grau de patogenicidade da linhagem. Na maioria das espécies é encontrado 107 a 109 organismos por grama de fezes, sendo que no intestino grosso é o local onde se encontra a maior concentração.

A resistência antimicrobiana representa uma ameaça significativa para o uso contínuo e bem sucedido de agentes antimicrobianos para o tratamento de infecções bacterianas (MADDOX et al., 2015). Embora a epidemiologia da resistência antimicrobiana de *E. coli* e *Salmonella* spp. tenha sido amplamente estudada em algumas espécies animais como aves e bovinos, os trabalhos relacionados aos equinos são escassos no Brasil.

Frente ao exposto, a presente pesquisa justificou-se pela necessidade de se verificar a presença dos agentes supracitados no trato gastrointestinal de equinos de Araguaína/TO, sendo possível, desta maneira, compreender os mecanismos de desencadeamento de diarreias na espécie, a transmissão por animais assintomáticos e, auxiliar produtores na escolha do melhor protocolo terapêutico para esses casos. Ainda, destaca-se também pela importância em determinar o papel dos equinos na disseminação dos enteropatógenos, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, no ambiente, visto que essa disseminação pode gerar graves problemas para a saúde animal e pública.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O cavalo

Os negócios que envolvem a criação e a utilização do cavalo ocupam importante posição nos países desenvolvidos e em muitos países em desenvolvimento, como o Brasil que possui o terceiro maior rebanho de equinos do mundo, com 5,9 milhões de cabeças. Deve-se destacar que a movimentação econômica deste setor é da ordem de R\$ 7,3 bilhões por ano com a ocupação direta de cerca 640 mil pessoas (BRASIL, 2016).

Devido a sua utilização no transporte, tração, lazer, entretenimento, esporte e até mesmo como fonte alimentar e ferramenta relevante na recuperação de crianças especiais (THOMASSIAN, 2005), a espécie equina guarda estreita relação com o ser

humano e, por esse motivo, pode ser o responsável pela propagação de enfermidades e, conseqüentemente, por transtornos à saúde pública.

Dentre as afecções que acometem esses animais, as do trato gastrointestinal tem papel de destaque (THOMASSIAN, 2005), sendo que as enterites de origem bacterianas causadas por *Salmonella* spp. ou *Escherichia coli*, geram grande preocupação para os clínicos veterinários e podem interferir negativamente na saúde humana.

2.2. Enterobactérias

2.2.1. Isolamento de Enterobactérias

As bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae são gram-negativas, apresentam resultado negativo frente ao teste da enzima oxidase e positivo no teste da enzima catalase. São microrganismos anaeróbicos facultativos, fermentadores de glicose e também de outros vários açúcares, e crescem bem em Ágar MacConkey (QUINN et al., 2005). A identificação das enterobactérias é realizada baseando-se nas características culturais como odor exalado durante o crescimento, por meio da morfologia e pigmentação das colônias, bem como pela realização de testes bioquímicos complementares (TRABULSI et al., 2005).

Os procedimentos microbiológicos para o isolamento de *E. coli* e *Salmonella* spp. a partir de amostras de fezes geralmente incluem etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento em caldo seletivo, plaqueamento em meio semi-sólido, provas bioquímicas e sorotipificação (SILVA et al., 2008). As etapas de enriquecimento em caldo seletivo e plaqueamento em meios semi-sólidos são utilizadas para auxiliar na recuperação e no desenvolvimento da bactéria de interesse e para inibir o crescimento de microrganismos competidores (FERNANDES et al., 2004; CÂMARA et al., 2011). Os testes bioquímicos designados por IMViC (Indol, vermelho de Metil, Voges-Proskauer e Citrato) constituem uma bateria de quatro testes bioquímicos fundamentais para diferenciar enterobactérias (QUINN et al., 2005).

Salmonella spp. cresce em meios de cultura para enterobactérias e em ágar sangue. Apresentam-se como colônias de 2-4 mm de diâmetro, com bordas lisas e arredondadas, e estruturas em relevo se o meio contiver carbono e nitrogênio e podem

permanecer como colônias viáveis por longo período se estocadas em peptona (KOVATS et al., 2004). Sob o ponto de vista bioquímico o gênero *Salmonella* possui habilidade para metabolizar nutrientes, catabolizando D-glicose ou outros carboidratos com a produção de ácido e gás, com exceção da lactose e sacarose. Na prova da catalase é positiva e da oxidase é negativa como todas as bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, não fermentam malonato, não hidrolisam a uréia, não produzem indol, utilizam citrato como fonte de carbono, reduzem nitrato a nitrito e podem produzir ácido sulfídrico (QUINN, 2005; BRASIL, 2011).

Já *E. coli* caracteriza-se por apresentar metabolismo anaeróbio facultativo, pois possui metabolismo respiratório e fermentativo. Sendo capaz de fermentar, com produção de ácido e gás, a lactose, glicose, maltose, manose, manitol, xilose, glicerol, ramanose, sorbitol e arabinose. A fermentação do adonitol, sacarose, salicina, rafinose, ornitina, dulcitol e arginina é variável (QUINN et al., 2005). Outras propriedades bioquímicas de *E. coli* são as reações características nos testes IMViC, positiva para as provas de produção de indol e na reação de vermelho de metila e negativa nos testes de Voges Proskauer e utilização de citrato. As provas de mobilidade e lisina são positivas, enquanto que a oxidase, hidrólise de uréia e liquefação de gelatina são negativas. Algumas cepas podem produzir H₂S. Também apresentam atividade das enzimas β -galactosidase e β -glucoronidase (OLIVEIRA et al., 2004; QUINN et al., 2005).

A sorotipagem ocupa um lugar de destaque no estudo destes microrganismos. Kauffmam (1944 apud Nataro; Kaper, 1998) propôs um esquema para a classificação sorológica de enterobactérias, que permanece sendo usado até os dias atuais. De acordo com o esquema de Kauffman, *E. coli* são sorotipadas com base em seu antígeno somático (O), flagelar (H) e capsular (K), sendo que a quantidade de diferentes antígenos identificados aumenta a cada ano.

O antígeno K é um polissacarídeo capsular que possibilita a resistência das cepas bacterianas quando combatidas pelo sistema complemento. O antígeno somático O ou lipopolissacarídeo (LPS), está envolvido com a liberação de endotoxinas durante a multiplicação ou destruição do microrganismo. Antígeno fimbrial F confere especificidade de aderência de *E. coli* nos tecidos e órgãos do hospedeiro. Por fim, o antígeno flagelar H está envolvido com a movimentação da estirpe pela presença de flagelos (FERREIRA et al., 2009).

2.2.2. *Escherichia coli*

Theodore Escherich (1855) descreveu um microrganismo que se encontrava em altas densidades nas fezes humanas e foi por ele nomeado *Bacterium coli*. Na década de 1950, esta bactéria passou a ser denominada *Escherichia coli* pelos microbiologistas e foi escolhida como modelo para estudos de processos biológicos básicos, tais como vias metabólicas, regulação gênica, transdução de sinais, estrutura de parede celular e conjugação (KUHNERT et al., 2000; BARBOSA, 2010).

Os mecanismos de virulência de *E. coli* podem ser definidos como: fatores capazes de modificar a superfície da célula hospedeira, de fixar-se a mesma, de produzir toxinas e enterotoxinas, bem como sistemas de secreção que exportam proteínas, além de outros (KUHNERT et al., 2000). Melo (2006) resume esses fatores como “fatores de colonização”, que favorecem a íntima ligação da bactéria aos enterócitos, impedindo a remoção da mesma pelo peristaltismo e como fatores que estimulam a liberação de toxinas/enterotoxinas que interferem com os processos fisiológicos normais da célula hospedeira.

A infecção por *E. coli* é um problema na criação de cavalos e causa septicemia, infecções entéricas, artrite crônica, letargia, depressão, anorexia e morte súbita. Endotoxemia, septicemia e infecções entéricas são os problemas mais graves que afetam potros neonatais, muitas vezes culminando com a morte (VU-KHAC et al., 2006). O diagnóstico presuntivo da infecção por *E. coli* é baseado no histórico e sinais clínicos, e confirmado pela presença da bactéria nas fezes após cultivo (KRIEG e HOLT, 1984; OLIVO, 2013).

E. coli em poucas horas após o nascimento do potro coloniza o trato intestinal destes por meio do contato com o ambiente, e então se estabelece neste local permanecendo como parte da microbiota normal por toda a vida do animal, vivendo de forma comensal no organismo (GYLES et al., 2010). É frequentemente isolada em fezes de potros diarreicos e é a causa mais comum de septicemia nesses animais, porém, raros estudos nessa categoria relacionou o agente como a causa primária do quadro diarreico (MAGDESIAN, 2005).

Como na maioria dos patógenos de mucosa, *E. coli* segue uma estratégia de infecção: i) colonização da mucosa, ii) evasão das defesas do hospedeiro, iii) multiplicação e iv) dano ao hospedeiro (COURA et al., 2014).

As amostras de *E. coli* associadas à infecção intestinal e causadora de diarreia ou disenteria, são conhecidas como *E. coli* diarreiogênicas e são classificadas em seis classes: *Escherichia coli* enteropatogênica clássica (EPEC), subdividida em EPEC típicas e atípicas, enterohemorrágica (EHEC), enterotoxigênica (ETEC), enteroagregativa (EAEC), enteroinvasiva (EIEC) e *Escherichia coli* de aderência difusa (DAEC) (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; TRABULSI, 2005; CROXEN et al., 2013). Sendo neste estudo abordadas:

2.2.2.1. *E. coli* enteropatogênica (EPEC)

A EPEC foi a primeira *E. coli* descoberta em 1940 e ainda é considerada a mais versátil entre as categorias diarreiogênicas e uma das principais causas de diarreia em crianças menores de cinco anos de idade (ANGELES, 2002). Mas não produzem nenhuma toxina associada à diarreia, entretanto provocam uma lesão característica no trato intestinal que é descrita como lesão de fixação e esfacelamento, ou seja, ocorre a destruição das microvilosidades das células intestinais (HIRSH, 2003).

EPEC causa diarreia pela ativação de sistemas secretórios, como a inibição da absorção de sódio e cloreto e ativação dos canais de cloreto, aumento da permeabilidade paracelular, afrouxamento das junções de oclusão (tight junctions), inflamação e produção de citocinas, e perda da área absorptiva em decorrência da destruição das microvilosidades (COURA et al., 2014).

2.2.2.2. *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC)

A EHEC recebeu esse nome em virtude do sinal clínico diarreinogênico (colite hemorrágica). Diversos animais podem albergar EHEC dentre espécies de animais domésticos e selvagens, incluindo porcos, burros, cavalos, veados, aves de capoeira, coelhos selvagens, cães e pássaros, mas os ruminantes são os principais associados a esse patógeno, sendo os bovinos o principal reservatório do sorogrupo O157 no trato gastrointestinal (CHAPMAN et al., 1997; LENGACHER et al., 2010). A transmissão

desta não ocorre apenas por alimento contaminado, podendo também ocorrer pelo contato com as fezes dos animais reservatórios.

2.2.2.3. *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)

Em humanos e animais cepas EIEC causam distúrbios no intestino grosso, provocam febre e diarréias profusas contendo muco e sangue. O microrganismo coloniza o cólon e contém um plasmídeo de 120 a 140 MDa necessário para a invasão, o qual carrega todos os genes necessários para a virulência (BERCHIERI JUNIOR et al., 2009).

As linhagens EIEC invadem ativamente as células do cólon e propagam-se lateralmente para as células adjacentes, virtualmente idênticas às espécies de *Shigella* spp. No entanto, as EIEC não produzem shigatoxinas. Quando a infecção é severa, pode levar a uma forte reação inflamatória com grande ulceração (MINAGAWA, 2007).

2.2.3. *Salmonella* spp.

A bactéria *Salmonella* spp. recebeu o nome de um importante patologista veterinário americano, Daniel E. Salmon, que foi membro da primeira classe de graduação em Ciência Veterinária da Cornell University em 1872. O gênero está constituído de duas espécies geneticamente distintas: *S. enterica* e *S. bongori*, sendo que a primeira está dividida em seis subespécies, que receberam as seguintes denominações: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (BRASIL, 2011).

Salmonella spp. pode ser isolada a partir de uma grande variedade de espécies animais, inclusive o homem, sendo descritos mais de 2500 sorovares com potencial patogênico (CÂMARA et al., 2011). Não existe espécie-especificidade na infecção dos animais pelos diferentes sorotipos descritos para o microrganismo, embora evidências apontem certa seletividade de determinados sorotipos nas infecções em animais (RIBEIRO et al., 2010).

Na indústria equina, o impacto econômico da salmonelose também pode ser substancial. Perdas financeiras podem ser incorridas pelo proprietário do cavalo decorrentes do custo da terapia dos animais clinicamente afetados e por morte de valiosos animais. Em algumas situações, um único caso pode levar a um surto de

doença em larga escala, particularmente em áreas de grandes aglomerações de cavalos, como fazendas reprodutoras, pistas de corrida ou hospitais veterinários. Além da ameaça financeira, a salmonelose equina também apresenta um risco zoonótico para os seres humanos que lidam com os animais afetados (CHAPMAN, 2006).

Numerosos estudos se concentraram em cavalos de hospitais, com estimativas de prevalência aparente que variam de 1,8 a 18%. A prevalência entre cavalos saudáveis em fazendas ou escolas de equitação parece ser consideravelmente menor, na faixa de 1 a 2% (HOELZER et al., 2011).

As enterotoxinas e citotoxinas da *Salmonella* spp. juntamente com a inflamação generalizada, causam o aumento da secreção pelo epitélio intestinal. Os cavalos infectados podem apresentar desde enterite leve até choque septicêmico. Em potros mais jovens, os sinais da enfermidade são mais graves do que em potros acima de quatro meses de idade, causando severa diarreia, febre, cólica, anorexia e hipertermia (OLIVO, 2013).

Há uma variedade de fatores que irão influenciar o desenvolvimento da salmonelose clínica em cavalos. Alguns desses fatores estão relacionados ao próprio microrganismo, como a dose infectante e a virulência da cepa individual, nos quais incluem vários componentes celulares da bactéria como moléculas de adesão, toxinas (citotoxina, endotoxina, enterotoxina) e resistência antimicrobiana. Outros fatores que influenciam a infecciosidade estão relacionados ao hospedeiro e sua susceptibilidade individual, tais como idade, estresse, estado reprodutivo e animais imunocomprometidos (CHAPMAN, 2006; HOELZER et al., 2011).

Em relação à saúde pública Hoelzer et al., (2011) afirmam que o contato com os cavalos representa claramente um risco para os humanos. No entanto, cavalos clinicamente saudáveis em equitação, escolas ou fazendas, especialmente se mantidos em condições ideais, parecem representar risco baixo à saúde humana.

O diagnóstico definitivo deve ser feito por isolamento e identificação da bactéria. As colônias com características de *Salmonella* spp. devem ser submetidas a testes bioquímicos capazes de indicar o gênero. As amostras identificadas bioquimicamente como *Salmonella* spp. deve ser submetida aos testes sorológicos com antisoros polivalentes (anti “O” e “H”) (CARDOSO; TESSARI, 2013).

2.4. Susceptibilidade antimicrobiana

Desde a sua introdução na década de 1930, os antimicrobianos revolucionaram o tratamento de doenças infecciosas em pacientes humanos e veterinários, aumentando significativamente o sucesso e o resultado do tratamento. No entanto, nos últimos anos, o uso frequente e, às vezes indiscriminado, desses compostos, tanto na medicina humana como na medicina veterinária, selecionou a resistência entre bactérias com um aumento associado da morbidade e mortalidade por doenças infecciosas (BRYAN et al., 2010).

A resistência bacteriana aos antibióticos deve-se, principalmente, à presença de plasmídeo e DNA cromossômico, que contém o fator de resistência. Assim, as bactérias se tornam mais resistente aos antibióticos sendo necessária uma nova geração de antibióticos para combatê-las (NAHAR et al., 2011).

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) além de orientar a escolha da terapia adequada, representa uma importante ferramenta no monitoramento da evolução da resistência bacteriana e age também como um método auxiliar na implantação de medidas de controle que evitem a disseminação de bactérias multirresistentes (ANVISA, 2008).

A metodologia de Kirby e Bauer (1966) para antibiograma é a mais difundida e utilizada até hoje na rotina de análises clínicas, devido à sua praticidade de execução, baixo custo e confiabilidade de seus resultados. Apesar de sua relativa simplicidade de execução, a técnica exige que as instruções sejam seguidas rigorosamente de forma que os resultados obtidos correspondam à realidade e possam ser comparados com as tabelas internacionais de leitura (LABORCLIN, 2011).

2.5. Prevenção e controle

Como medidas de prevenção e controle da *Salmonella* spp. e *E. coli* patogênica em equinos, podemos citar a limpeza e desinfecção dos ambientes e equipamentos, o fornecimento de água potável, o isolamento dos animais infectados (para a *Salmonella* spp, até que cinco culturas negativas sejam obtidas) e a quarentena dos recém adquiridos (SMITH, 1981; LOSINGER, et al., 2002).

Salmonella spp. são microorganismos que não podem ser completamente eliminados do ambiente hospitalar ou da fazenda. No entanto, limitando a exposição e propagação da infecção pode-se ajudar a diminuir a incidência e gravidade da infecção entre cavalos (CHAPMAN, 2006).

O tratador ou médico veterinário deve evitar o contato boca a boca ou nariz com animais suspeitos, lavar bem as mãos com sabão e água depois de manusear cavalos doentes, especialmente aqueles com diarreia e, uso de equipamentos de proteção individual (EPI), durante a manipulação dos equinos (WEESE, 2002).

2.6. Considerações finais

A família enterobacteriaceae possui como representantes as bactérias *E. coli* e *Salmonella* spp., que podem acometer tanto os animais como os seres humanos, o que retrata o potencial zoonótico dos agentes. A primeira é considerada componente natural da flora intestinal de mamíferos, porém a existência de cepas patogênicas pode desencadear sintomas diarreinogênicos. A segunda possui mais de 2500 sorovares com potencial patogênico que não possuem espécie-especificidade, o que facilita os quadros de infecção.

Ainda, o uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana e veterinária pode ter influenciado para o desenvolvimento de características de resistência das cepas de *Salmonella* spp. e *E. coli*, já que estes microorganismos são extremamente dinâmicos e alteram seu fenótipo como mecanismo de adaptação às mudanças no meio.

Por estes motivos, é importante estudar a distribuição desses agentes bem como à resistência aos antibióticos, sendo que no Brasil, vários estudos foram realizados nas espécies de produção como aves, bovinos e suínos. No entanto, em equinos e correlacionando com a saúde pública, ainda são escassos.

3 OBJETIVOS

3. 1. Gerais:

Verificar a prevalência e a susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* diarreiogênica e *Salmonella* spp. em equinos no município de Araguaína-TO.

3. 2. Específicos:

- Isolar *E. coli* e *Salmonella* spp. por cultivo e provas bioquímicas;
- Verificar a prevalência de infecções por *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*;
- Determinar a frequência de sorogrupos diarreiogênicos de *E. coli* (EPEC, EHEC e EIEC) pela técnica de aglutinação em lâmina;
- Realizar teste de sensibilidade das bactérias em relação a alguns antibióticos;

REFERÊNCIAS

- ANGELES, G. R. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. **Salud Publica Mex.** sep;44(5):464-75. 2002.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Módulo 5. **Teste de Sensibilidade aos antimicrobianos**. 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo_5/introducao.htm. > Acesso em 18/01/2018.
- BARBOSA, M. M. C. **Identificação sorológica e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de *Escherichia coli* isoladas de peixe e água de pesque-pagues**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 67f. 2010.
- BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal Clinical Pathology**, v.45, p. 493-496, 1966.
- BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, p.455-469. 2009.
- BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v.70, n.2, p. 567-590, 1990.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*** /Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 60 p. : il. – (Série A. Normas e manuais técnicos).
- BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Efetivo dos rebanhos por tipo de rebanho**. Disponível em: <<https://serieestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?vcodigo=PPM01> >. Acesso em: jan. 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavallo**. Brasília. 2016.
- BRYAN, J. et al. Antimicrobial resistance in commensal faecal *Escherichia coli* of hospitalised horses. **Irish Veterinary Journal**. 63(6): 373–379. 2010.
- CÂMARA, S. R. et al. Salmonelose: fatores envolvidos no processo de diagnóstico e importância para a saúde pública. **Ciência Animal**. 21(1): 54-64, 2011.
- CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. *Salmonella* enteritidis em aves e na saúde pública: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina veterinária**. ISSN: 1679-7353. Ano XI – Numero 21 – 2013.

- CHAPMAN, P. A. et al. A 1-year study of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle, sheep, pigs and poultry. **Epidemiology and Infection**. 119:245–250. 1997.
- CHAPMAN, A. M. **Characterizing *Salmonella* fecal shedding among racehorses in Louisiana**. Mestrado (Dissertação) – Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and mechanical College. Dezembro. 2006. 69fls.
- COHEN, N. D. et al. Detection of *Salmonella enteritidis* in equine feces using the polymerase chain reaction and genus-specific oligonucleotide primers. **J. vet. Diagn. Invest.** 7, 219-222. 1995.
- COURA, F. M.; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B. Patotipos de *Escherichia coli* causadores de diarreia em bezerros: Uma atualização. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 811–818, 2014.
- CROXEN, M. A. et al. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013.
- DALY, K. et al. Bacterial diversity within the equine large intestine as revealed by molecular analysis of cloned 16S rRNA genes. **FEMS Microbiol. Ecology**, v.38, p. 141- 151, 2001.
- ERNST, N. S. et al. Risk factors associated with fecal *Salmonella* shedding among hospitalized horses with signs of gastrointestinal tract disease. **J Am Vet Med Assoc**. **225**(2): p. 275-81. 2004.
- FEARY, D. J.; HASSEL, D. M. Enteritis and Colitis in Horses. **Vet Clin Equine**, 22, 437– 479. 2006.
- FERREIRA, A. J. P., REVOLLEDO, L.; FERREIRA, C. S. A. Colibacilose. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A. J. P. Patologia aviária. Cap. 7. Barueri: Manole Ltda., p.67-74. 2009.
- FERNANDES, A. C. et al. Avaliação de meios de cultivo para o isolamento de *Salmonella*. **Ars Veterinária**, v.20, p.330-337, 2004.
- GYLES, C. L. et al. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 4ed. Estados Unidos: Wiley-Blackwell. p.643. 2010.
- GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3.ed. Canada: Saunders/Elsevier. 1387p. 2006.
- HIRSH, D. C. *Escherichia*. In: HIRSH, D. C.; ZU, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro, p.63-68, 2003.
- HOELZER, K.; SWITT, A. I. M.; WIEDMANN, M. Review: Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. **Veterinary Research**. 42:34. 2011.
- HOLLAND, R. E. et al. Characterization of *Escherichia coli* isolated from foals. **Veterinary Microbiology**, v.48, p.243-255, 1996.

VU-KHAC, H. et al. Serotypes, virulence genes, and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhoea in Slovakia. **BMC Veterinary Research**, 2(10): 150-165. 2006.

KAPER, J. B.; NATARO, J. D.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Natural Review**, v.2, n.2, p.123-139, 2004.

KIM, L. M. et al. Factors associated with Salmonella shedding among equine colic patients at a veterinary teaching hospital. **J. Am. vet. med. Ass.** 218, 740-748. 2001.

KOVATS, R. S. et al. The effect of temperature on food poisoning: a time-series analysis of salmonellosis in ten European countries. **Epidemiology Infection**, v.132, n.3, p.443-453, 2004.

KRIEG, N. R.; HOLT, H. J. **Facultative anaerobic gram-negative rods: Family I. Enterobacteriaceae**. United States of America: Williams; Wilkins, v.01, p. 408-420, 1984.

KUHNERT, P.; BOERLIN, P.; FREY, J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment. **FEMS Microbiology Reviews**, v.24, n.1, p.107-117. 2000.

LABORCLIN. **Manual para Antibiograma, Difusão em Disco (Kirby e Bauer)**. Pinhais: LABORCLIN, 2011.

LENGACHER, B. et al. Low Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Horses in Ohio, USA. **Journal of Food Protection**, Vol. 73, No. 11, 2010, Pages 2089-2092.

LOSINGER W. C., et al. Factors associated with fecal-shedding of Salmonella spp by horses on US operations. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** vol.54 no.2 Belo Horizonte Apr. 2002.

LUCAS, T. M. **Ocorrência e investigação de fatores de virulência em enteropatógenos de origem bacteriana em potros até três meses de idade, com e sem diarreia, criados no interior do estado de São Paulo**. Botucatu. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. 2012. 90p

MADDOX, T. W. et al. Antimicrobial resistance in bacteria from horses: Epidemiology of antimicrobial resistance. **Equine Veterinary Journal** 47:756-765. 2015.

MAINAR-JAIME, R. C. et al. Influence of faecal shedding of Salmonella organisms on mortality in hospitalized horses. **J. Am. vet. med. Ass.** 213, 1162-1166. 1998.

MAGDESIAN, K. G.; Neonatal Foal Diarrhea. **Veterinary Clinic Equine**. v. 21, p. 295- 312, 2005.

MCKENZIE, H. C. AND MAIR, T. S. Equine salmonellosis. In: MAIR T. S. HUTCHISON R. E. (eds). **Infectious diseases of the horse**. 1 st. Ed. Fordham, UK: Equine Veterinary Journal. 2013.

MEIRELLES, M.; et al. Enterite por coronavírus em potros puro sangue inglês em um haras no Rio Grande do Sul. **XVII Congresso de Iniciação Científica e X Encontro de Pós Graduação**. 2008.

MELO, S. K. **Caracterização de Fatores de Virulência em amostras de *Escherichia coli* isoladas de lagoas do Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais**. Dissertação [Mestrado em Engenharia Ambiental] – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2006.

MINAGAWA, C. Y. **Estudo microbiológico fecal de linhagens de camundongos, de estirpe de *E. coli* e do meio ambiente em biotérios**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007. 108 f.

NAHAR, K. M. et al. *Escherichia coli* from horses reared in and around bangladesh agricultural university campus- a study on isolation and characterization. **Progressive agriculture**, 22(1 e 2): 27 – 35, 2011.

OLIVEIRA, C. J., CARVALHO, L. F.; GARCIA, T. B. Experimental airborne transmission of *Salmonella* Agona and *Salmonella* Typhimurium in weaned pigs. **Epidemiology and Infection**, 134(1): p. 199-209. 2006.

OLIVO, G. **Estudo clínico e etiológico da diarreia em potros**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 112f. 2013.

PALMER, J. E., BENSON, C. E.; WHITLOCK, R. H. Salmonella shed by horses with colic. **J Am Vet Med Assoc**, 187(3): p. 256-7. 1985.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Artmed, Porto Alegre, p.115-130. 2005.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicina: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Philadelphia: Saunders, p.2162. 2007.

RIET-CORREA F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 2ª ed. Varela, São Paulo. Vol 1, 425p. 2001.

RIBEIRO, M. G. et al. Caracterização de sorotipos em linhagens do gênero *Salmonella* isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30(2):155-160, 2010.

SANCHEZ-VARGAS, F. M.; ABU-EL-HAJA, M. A.; GOMEZ-DUARTE, O. G. *Salmonella* infections: an update on epidemiology, management, and prevention. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 9, p. 263-277, 2011.

SANTOS, L. R. et al. Contaminação ambiental em um hospital veterinário e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, 2010.

SILVA D. G., FAGLIARI, J. J., GARCIA, T. B. Comparação da eficiência dos caldos de enriquecimento seletivo no isolamento de *Salmonella* Dublin. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, p.766-768, 2008.

SMITH, B. P. Equine salmonellosis: a contemporary view. **Equine Vet. J.**, v.13, p.147-151, 1981.

THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos Cavalos**. 4º edição, Ed. Varela, 2005.

TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 4a Edição, 2005.

TRAUB-DARGATZ, J. L. et al. Fecal shedding of *Salmonella* spp by horses in the United States during 1998 and 1999 and detection of *Salmonella* spp in grain and concentrate sources on equine operations. **J Am Vet Med Assoc**, 217(2): p. 226-30. 2000.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 3ª ed. São Paulo: Ed Atheneu; 2005.

WARD, M. P. et al. Evaluation of a PCR to detect *Salmonella* in faecal samples of horses admitted to a veterinary teaching hospital. **J. Vet. Diagn. Invest.** 17, 118-123. 2005.

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

WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in Domestic Animals**. 1.ed. New York: CABI Publishing. 463p. 2000.

Os dois artigos científicos apresentados a seguir demonstram os resultados encontrados nesta pesquisa. Os tópicos Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão e Referências encontram-se descritos a seguir.

CAPITULO II

Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* diarreiogênica em equinos no município de Araguaína-TO.

**PREVALÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE
ESCHERICHIA COLI DIARREIOGÊNICA EM EQUINOS NO MUNICÍPIO DE
ARAGUAÍNA-TO.**

**PREVALENCE AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF
DIARRHOGENIC *ESCHERICHIA COLI* IN HORSES IN THE
MUNICIPALITY OF ARAGUAÍNA-TO.**

Resumo

A infecção por *E. coli* é um problema na criação de cavalos podendo causar septicemia, infecções entéricas, artrite crônica, letargia, depressão, anorexia e morte súbita. As cepas patogênicas são responsáveis por altos índices de mortalidade e morbidade em humanos e animais. O presente estudo teve o objetivo de verificar a prevalência de *E. coli* diarreiogênica e sua susceptibilidade frente aos antimicrobianos mais utilizados na clínica veterinária de equinos e humanos. Foram colhidas, por palpação retal, amostras de fezes de 72 equinos, machos e fêmeas, de idade variada e livre de problemas entéricos. Por meio de técnicas de isolamento e identificação bacteriológica detectou-se prevalência de 54,16% (39/72) de *E. coli*. A partir da sorologia realizada com as amostras positivas, encontrou-se 68 diferentes cepas, das quais 32 (47,06%) são referentes a *E. coli* diarreiogênica. Destas, 26 (81,25%) são enteropatogênicas, 5 (15,62%) enteroinvasoras e 1 (3,13%) enterohemorrágica. Quanto à susceptibilidade antimicrobiana, os fármacos mais eficientes em ordem decrescente foram a ciprofloxacina, meropenem, enrofloxacina, gentamicina e cefepima. Conclui-se com os resultados encontrados que os equinos são potenciais reservatórios de *E. coli* patogênica e podem ser a fonte de infecção para os seres humanos. Ainda, que a cultura e antibiograma são importantes para a eleição do antibiótico a ser usado no combate da infecção.

Palavras-chave: Antibiograma, Cavalos, Isolamento bacteriano, Resistência antimicrobiana.

Abstract

E. coli infection is a problem in breeding horses and can cause septicemia, enteric infections, chronic arthritis, lethargy, depression, anorexia and sudden death. pathogenic strains are responsible for high mortality and morbidity rates in humans and animals. The present study aimed to verify the prevalence of diarrheogenic *E. coli* and its susceptibility to the most used antimicrobials in the veterinary clinic of horses and humans. Fecal samples from 72 male and female horses of different ages and free of enteric problems were collected by rectal palpation. Isolation and bacteriological identification techniques showed a prevalence of 54.16% (39/72) of *E. coli*. From the serology performed with the positive samples, 68 different strains were found, of which 32 (47.06%) are related to diarrheogenic *E. coli*. Of these, 26 (81.25%) were enteropathogenic, 5 (15.62%) enteroinvasive and 1 (3.13%) enterohemorrhagic. As for

antimicrobial susceptibility, the most efficient drugs in descending order were ciprofloxacin, meropenem, enrofloxacin, gentamicin and cefepime. It is concluded with the findings that equines are potential reservoirs of pathogenic *E. coli* and may be the source of infection for humans. Also, that culture and antibiogram are important for the choice of antibiotic to be used in the fight against infection.

Key-words: Antibiogram, Horses, Bacterial isolation, Antimicrobial resistance.

Introdução

E. coli é a principal representante da família Enterobacteriaceae, possuindo diferentes fatores de virulência (ACHA e SZYFRES, 2001; QUINN et al., 2005; TRABULSI et al., 2005) e, embora infecções extra-entericas como a endometrite, mastite, cistite, artrite, aborto, osteomielite, pneumonia, conjuntivite e septicemia possam ocorrer, o principal problema ocasionado são os distúrbios entéricos clássicos (GREENE, 2006; RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007).

Isolados de *E. coli* relevantes na medicina humana e veterinária podem ser classificados em três grandes grupos, de acordo com as características genéticas e comportamento clínico, a saber: cepas comensais intestinais, cepas patogênicas entericas e cepas patogênicas extra intestinais (RUSSO e JOHNSON, 2000). A maioria das cepas de *E.coli* são comensais, porém existem estirpes altamente patogênicas e responsáveis por altos índices de mortalidade e morbidade em humanos e animais (GYLES et al., 2010).

Gyles et al., (2010) afirmaram que o agente é isolado facilmente de fezes de animais com ou sem diarreia e, que a severidade clínica é dependente da presença de fatores de virulência, responsáveis por determinar o grau de patogenicidade da linhagem. Na maioria das espécies é encontrado 10^7 a 10^9 organismos por grama de fezes, sendo no intestino grosso encontrada a maior concentração (CROXEN et al., 2013).

Segundo Maddox et al., (2015) a principal preocupação com a presença de *E. coli* em fezes de cavalo é do ponto de vista da saúde humana, já que as cepas resistentes a antimicrobianos e multi-resistentes (MDR) de *E. coli* foram isoladas das fezes de cavalos hospitalizados, especialmente aqueles que foram tratados com antibióticos

orais. A situação do uso indiscriminado de antimicrobianos no tratamento e prevenção de doenças é um problema de saúde animal e pública (MOTA et al., 2005).

Tendo em vista o exposto acima, esse trabalho teve como objetivo verificar a prevalência de *E. coli* diarreiogênica a partir de fezes de equinos bem como avaliar a susceptibilidade antimicrobiana dos isolados no município de Araguaína- TO.

Material e Métodos

Delineamento experimental e Análise estatística

O tamanho da amostra (n) foi calculado levando-se em consideração o tamanho da população de equinos cadastrados na Agência de Defesa Agropecuária do Tocantins- ADAPEC-Julho/2016) que era de 5500 animais, a frequência (%) hipotética (antecipada) de 5% (TRAUB-DARGATZ et al., 2000; CHAPMAN, 2006), intervalo de confiança de 95% e EDDF = 1. A fórmula empregada foi:

$$n = [EDFF * Np(1-p)] / [(d2/Z21-\alpha/2*(N-1)+p*(1-p)]$$

A análise dos dados foi realizada de forma descritiva, por meio de frequências percentuais.

Coleta das amostras

Foram colhidas amostras de fezes diretamente da ampola retal de 72 equinos de raça, sexo e idade distintos, pertencentes a diferentes regiões do município de Araguaína - TO. As coletas se deram em dias diferentes e todas no início da manhã. Apenas foram incluídos no projeto aqueles que não tinham recebido antibioticoterapia nos últimos seis meses e que não apresentavam qualquer alteração que revelasse problema no trato gastrointestinal, como diarreia ou cólica. O referido trabalho teve aprovação no comitê de ética de uso de animais da UFT (CEUA/UFT) sob o número 23101.006989/2016-23.

Juntamente com a coleta das fezes, foi feita a anamnese com os responsáveis pelos animais, onde se levantou informações quanto à idade, manejo nutricional e manejo sanitário a que os animais eram submetidos.

Após contenção física dos animais, as amostras de fezes foram coletadas, utilizando-se luva apropriada, sendo uma para cada animal. Para evitar a interferência

ou prejuízo em qualquer etapa do processamento das amostras, utilizou-se água destilada para “lubrificar” a luva e facilitar a introdução da mão na ampola retal. Aproximadamente um grama de fezes (HENDRIX, 2006) foi coletado por animal e imediatamente colocado em tubo do tipo Falcon previamente identificado e acondicionado em isopor com gelo reciclável. Nesse tubo havia 2ml de PBS-1x (NaCl 0,015M, PO₄ 0,01M, pH 7,2) utilizado para diluição da amostra. Em seguida, o tubo retornava à caixa de isopor onde permanecia até a chegada ao Laboratório de Microbiologia da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, onde as amostras foram processadas. O tempo entre a coleta da amostra e o início do processamento não excedeu duas horas.

Isolamento e Identificação bacteriana

Nesta etapa, uma alíquota de 1,0 mL da amostra contida no tubo Falcon era inoculada em 9 mL de caldo selenito cistina e outro 0,1 mL em 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, contidos em diferentes tubos de ensaio, limpos, identificados e esterilizados em autoclave conforme recomendado (121°C por 15 min) por Pelczar (1997). Após a inoculação, os tubos eram incubados a 37°C por 24 horas (PESSOA e PEIXOTO, 1971).

A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, repicou-se no ágar Salmonella-Shigella (SS) e no meio ágar MacConkey, ambos previamente preparados em placas de Petri estéreis e descartáveis, estriando de forma a se obter colônias isoladas com o auxílio de alça bacteriológica. Então, novamente incubou-se a 37°C por mais 24 horas.

Para a identificação das colônias obtidas no plaqueamento seletivo, foram colhidas com o auxílio de uma alça de duas a quatro colônias com características sugestivas de *E. coli* (colônias lactose positivas no Mac Conkey e de coloração rosa ou vermelha no Agar SS). Para triagem foram repicadas em tubos contendo meio inclinado Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Agar Lisina-Ferro (LIA), por picada central até o fundo, seguido de espalhamento na superfície e incubação durante 24h a 37°C. Cada amostra foi individualmente analisada, segundo a metodologia proposta por Krieg e Holt (1984).

A partir desta triagem nos meios seletivos e indicadores foram realizadas provas bioquímicas complementares necessárias para confirmar a presença da *E. coli*, tais como: uréia, produção de indol, motilidade, vermelho de metila, citrato, glicose, lactose

e sacarose (BRASIL, 2011). As amostras confirmadas foram semeadas em tubo contendo Agar nutriente a fim de conservá-las para posterior utilização.

Deteccção dos sorogrupos de *E. coli* por aglutinação em lâmina

A partir do ágar nutriente, as amostras foram repicadas em Agar BHI (Brain Heart Infusion) e incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. A fim de se obter a suspensão bacteriana, com o auxílio de swabe pegou-se a massa bacteriana e colocou-se em endorff contendo 1 ml de solução salina até atingir turvação semelhante ao tubo 3 da escala de MacFarland (BRASIL, 2011).

Para a reacção utilizou-se 10 µL da suspensão bacteriana e 10 µL do anti-soro seguindo as recomendações do fabricante. Para determinação dos sorogrupos EHEC foi utilizado o soro anti *E. coli* O157. Para determinação dos sorogrupos EPEC foi utilizado o soro polivalente anti *E. coli* enteropatogénica clássica: Polivalente A; Polivalente B; Polivalente C. Para determinação dos sorogrupos EIEC foi utilizado o soro polivalente anti *E. coli* enteroinvasora: Polivalente A e Polivalente B. A presença de aglutinação foi considerada resultado positivo para essa prova.

Teste de sensibilidade

As cepas estocadas em ágar nutriente foram repicadas em ágar BHI e incubadas a 37°C por 24 horas, para crescimento e obtenção de colónias isoladas. Após o crescimento, transferiu-se de uma a três colónias para um microlitro de caldo Mueller Hinton e incubou-se a 37°C até que se atingisse a turvação igual a de uma solução padrão nº 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente 10^8 microrganismos/mL). Este processo foi realizado com todas as amostras de *E. coli*.

Após duas a oito horas de incubação, semeou-se com o auxílio de um swabe estéril, homogeneamente o inócuo em placas contendo Agar Mueller Hinton (MHA). Após a absorção, foram inseridos os polidiscos (Sensifar® e Laborclin®) utilizando uma pinça previamente flambada, e em seguida incubou-se a 37°C por 24 horas, quando então procedeu-se com a leitura dos resultados. O antibiograma e sua interpretação seguiram o método recomendado pelo CLSI (2011) (antigo NCCLS, o qual é baseado no método de Bauer et al., 1966 originalmente).

Os antibióticos utilizados foram: betalactâmicos+inibidores de betalactamase (Amoxicilina + Ac. Clavulânico-20/10µg), aminoglicosídeos (Gentamicina - 10µg),

quinolonas (Ciprofloxacina - 5µg), carbapenens (Meropenem - 10µg), fluoroquinolona (Enrofloxacin - 5 µg), sulfas (Sulfonamida - 300 µg; Sulfazotrim - 25 µg), cefepima (30µg), florfenicol (30µg) e tetraciclina (30µg).

O resultado consistiu na medição do diâmetro da zona de inibição com a ajuda de um paquímetro em milímetros. A interpretação do teste foi baseada na tabela que determina as medidas padrões dos halos de inibição de cada antimicrobiano segundo a seguinte classificação: Sensível - quando uma infecção por uma determinada cepa pode ser tratada adequadamente com a dose de agente antimicrobiano recomendada para esse tipo de infecção e espécie infectante; Intermediário - implica eficácia clínica nos sítios corpóreos de concentração fisiológica das drogas ou quando é possível usar uma dose da droga maior que a normal; Resistente – quando as cepas não são inibidas pelas concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos (BRASIL, 2005).

Resultados e Discussão

Os animais utilizados na presente pesquisa tinham idade média de 8,3 anos, estavam distribuídos em onze propriedades diferentes e apresentavam-se clinicamente saudáveis. Comumente, os distúrbios intestinais de origem infecciosa estão relacionados às falhas no manejo sanitário nas propriedades (RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007), não sendo a idade, um fator preponderante para ocorrência dos mesmos. Melo et al. (2007) estimaram que 80% dos potros apresentam pelo menos um episódio diarreico nos primeiros seis meses de vida e esse fato é influenciado pelo clima, densidade populacional, manejo sanitário, trânsito de animais, coabitação com outras espécies e a utilização dada ao animal (RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007), fatores estes que também podem ser inseridos como de risco para animais adultos.

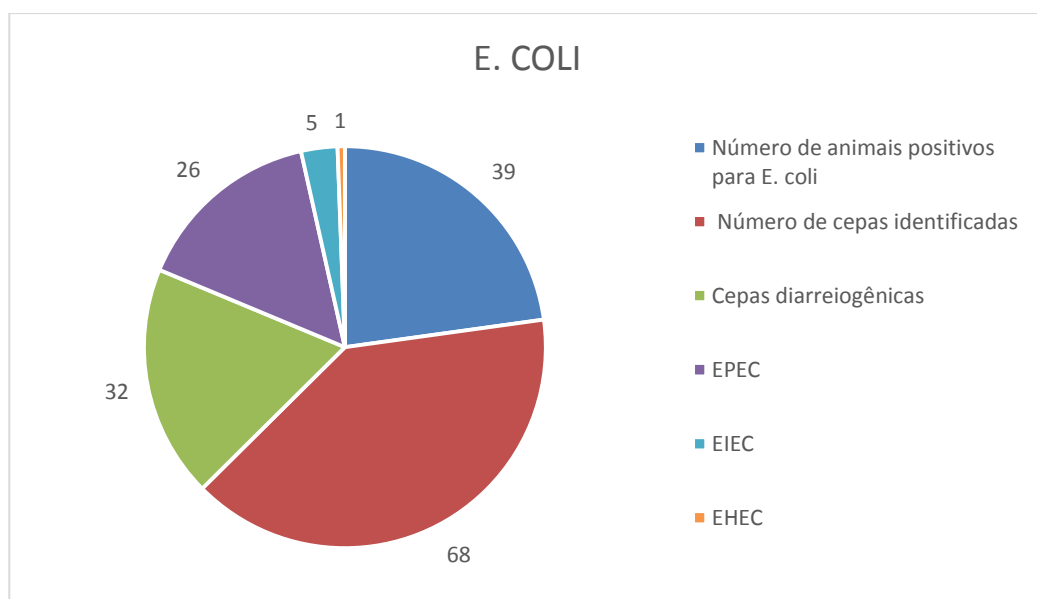
As cepas isoladas de *E. coli* apresentaram colônias de coloração rosa (lactose positiva) em ágar MacConkey e rosa ou vermelha em Agar SS, o que vai de encontro ao padrão descrito para a identificação da espécie (TRABULSI, 2005). Nas provas bioquímicas denominadas IMViC e demais provas complementares (Quadro 1), as cepas isoladas também apresentaram características descritas na literatura para *E. coli* (TRABULSI, 2005; BRASIL, 2011).

Quadro 01. Resultado das provas bioquímicas para *E. coli*.

Provas bioquímicas	Resultados
Indol	(+ ou -)
Vermelho de Metila	(+)
Voges –Proskauer	(-)
Citrato	(-)
Uréia	(-)
Motilidade	(+)
Glicose	(+)
Lactose	(+)
Sacarose	(+ ou -)

Legenda: (+) positivo e (-) negativo

Por meio de técnicas de isolamento e identificação bacteriológica detectou-se prevalência de 54,16% (39/72) de *E. coli*. A partir da sorologia realizada com as amostras positivas, encontrou-se 68 diferentes cepas, das quais 32 (47,06%) são referentes a *E. coli* diarreio gênica. Destas, 26 (81,25%) são enteropatogênicas, 5 (15,62%) enteroinvasoras e 1 (3,13%) enterohemorrágica (Figura 1)

Figura 1: Prevalência de *E. coli* diarreio gênica em equinos no município de Araguaína.

Gyles et al., (2010) descreveram que o agente é facilmente isolado nas fezes de animais com e sem diarreia e que a severidade clínica do processo está relacionada à presença de fatores de virulência. Os mesmos autores ainda afirmaram que a *E. coli* é a principal bactéria que coloniza o intestino dos animais domésticos sadios, sendo o intestino grosso o que possui a maior concentração do micro-organismo. Em levantamento feito por LUCAS (2012), a *E. coli* foi isolada em 64 amostras de fezes (60,3%), sendo que apenas 16 (25%) eram de animais sem distúrbios entéricos, o que nem todos os animais apresentam o agente em seu trato gastrointestinal.

As cepas identificadas são conhecidas como diarreio gênicas, pois estão associadas à infecção intestinal e desenvolvimento de diarreia (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; BARBOSA, 2010). A diferenciação das linhagens é importante para se diferenciar as patogênicas das não patogênicas, para as investigações epidemiológicas (GYLES et al., 2010) e compreensão, devido ao convívio próximo do homem com o cavalo, da relação entre infecção animal e a saúde pública. Em um estudo realizado na Coreia por Chung et al., (2016), o contato frequente dos tratadores e cavaleiros com cavalos foi considerado fator potencial para a infecção por *E. coli* patogênica, fato que pode ser também transposto para o presente trabalho e que demonstra a relação e a importância dos achados na saúde pública.

Neste estudo foi encontrada baixa frequência para EHEC (1,47%), o que também já foi apontado por diversos pesquisadores (ACHA; SZYFRES, 2001; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; BARBOSA, 2010; TRABULSI, 2005; VERONESI, 2005). Os principais reservatórios dessa linhagem para os humanos são os bovinos, que as eliminam através das fezes e contaminam frutas, verduras, águas, leite e carne (RIBERIO et al., 2000). No entanto, a detecção de tal linhagem e a proximidade dos equinos com o ser humano, torna esses animais que apresentam o agente também como importante reservatório.

Lengacher et al., (2010) a EHEC em cavalos de Ohio e atribuíram esse fato ao contato dos equinos com pequenos ruminantes. Na pesquisa em tela, todos os equinos tinham contato com ruminantes e ou pequenos ruminantes, o que pode ter sido o fato de infecção dos animais.

Quanto à sensibilidade antimicrobiana “in vitro” para os isolados de *E. coli*, mostrou que os fármacos mais eficientes foram a ciprofloxacina, meropenem,

enrofloxacina, gentamicina e cefepima, mostrando que esses fármacos podem ser empregados como antimicrobianos de eleição no tratamento de colibacilose em equinos de Araguaína. Esses achados corroboram aos de Lucas (2012) trabalhando com potros diarreicos. Em animais não diarreicos, o mesmo autor identificou maior sensibilidade ao ciprofloxacino e enrofloxacino.

A maior resistência dos isolados observada foi para a doxiciclina e sulfonamida, similar ao observado por Lucas (2012), que verificaram maior resistência a tetraciclina, sulfametoxazole/trimetropim e ampicilina.

A resistência antimicrobiana é reconhecida como um importante problema dentro da medicina humana e veterinária, sendo que os mecanismos responsáveis para que isso ocorra são controlados por genes específicos, que geram: inativação ou modificação enzimática dos antimicrobianos, impermeabilidade da parede ou da membrana bacteriana, expulsão ativa do fármaco por bomba de efluxo e alteração dos receptores alvo. A resistência pode ser atribuída, segundo TRABULSI et al., 1999 e RADOSTITS et al., 2007, ao uso intensivo de agentes antimicrobianos por décadas em animais de produção e equinos, o que aumentou a pressão seletiva para os isolados resistentes. A importância dos achados deste trabalho, respalda a necessidade de testes de sensibilidade “in vitro” quando na instituição de tratamento de casos de enterite em humanos e equinos.

Conclusão

Conclui-se com os resultados encontrados que os equinos são potenciais reservatórios de *E. coli* patogênica e podem ser a fonte de infecção para os seres humanos e outros animais. Ainda, que testes de sensibilidade “in vitro” são importantes para a escolha do melhor agente antimicrobiano, para o sucesso terapêutico e para um melhor prognóstico.

Referências

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3. ed. Washington: **Organización Panamericana de La Salud**. p.398, 2001.

AHMED, M. O. et al. Antimicrobial resistance in equine faecal *Escherichia coli* isolates from North West England. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**. 2010, 9:12.

BARBOSA, M. M. C. **Identificação sorológica e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de *Escherichia coli* isoladas de peixe e água de pesque-pagues** Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2010. 67f.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal Clinical Pathology**, v.45, p. 493-496, 1966.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*** /Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 60 p.: il. – (Série A. Normas e manuais técnicos).

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Direitos de Tradução e Reprodução). **Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo. M100-S15. Vol. 25 No. 1. 2005.**

CHAPMAN, A. M. **Characterizing salmonella fecal shedding among racehorses in Louisiana**. Mestrado (Dissertação) – Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and mechanical College. Dezembro. 2006. 69fls.

CHUNG, Y. S., et. al. Isolation and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from national horse racetracks and private horse-riding courses in Korea. **Journal Veterinary Science**, 2016, 17(2), 199-206
<http://dx.doi.org/10.4142/jvs.2016.17.2.199>.

CROXEN, M. A. et al. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013.

GYLES, C. L. et al. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 4ed. Estados Unidos: Wiley-Blackwell. p.643. 2010.

GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3.ed. Canada: Saunders/Elsevier. 1387p. 2006.

HENDRIX, C. M. **Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários**. [Tradução Paulo Marcos Agria de Oliveira]. – São Paulo: Roca, 2006.

KAPER, J. B.; NATARO, J. D.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Natural Review**, v.2, n.2, p.123-139, 2004.

KRIEG, N. R.; HOLT, H. J. **Facultatively anaerobic gram-negative rods: Family I. Enterobacteriaceae**. United States of America: Williams; Wilkins, v.01, p. 408-420, 1984.

LENGACHER, B. et al. Low Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Horses in Ohio, USA. **Journal of Food Protection**, Vol. 73, No. 11, 2010, Pages 2089–2092.

- LUCAS, T. M. **Ocorrência e investigação de fatores de virulência em enteropatógenos de origem bacteriana em potros até três meses de idade, com e sem diarreia, criados no interior do estado de São Paulo.** Botucatu. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. 2012. 90f.
- MADDOX, T. W. et al. Antimicrobial resistance in bacteria from horses: Epidemiology of antimicrobial resistance. **Equine Veterinary Journal** 47:756-765. 2015.
- MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição à multirresistência bacteriana. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.42, p.465-470, 2005.
- NAHAR, K. M. et al. Escherichia coli from horses reared in and around bangladesh agricultural university campus- a study on isolation and characterization. **Progress. Agric.** 22(1 e 2): 27 – 35, 2011.
- PELCZAR, M. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** vol 1 e 2. São Paulo: Makron, 2 ed. 1997.
- PESSOA, G. V. A.; PEIXOTO, E. S. Caldo seletivo novobiocina. Um meio de maior seletividade para isolamento de Salmonella de fezes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.31, p.1-3, 1971.
- QUINN P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.** Artmed, Porto Alegre, p.115-130. 2005.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicina: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.** 10.ed. Philadelphia: Saunders, p.2162. 2007.
- RUSSO, T. A.; JOHNSON, J. R. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of Escherichia coli: ExPEC. **Journal of Infectious Diseases**, v.181, n.5, p.1753-1754, 2000.
- TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia.** São Paulo: Atheneu, 4a Edição, 2005.
- TRAUB-DARGATZ, J. L. et al. Fecal shedding of Salmonella spp by horses in the United States during 1998 and 1999 and detection of Salmonella spp in grain and concentrate sources on equine operations. **J Am Vet Med Assoc.**, 217(2): p. 226-30. 2000.
- VERONESI, R.F. **Tratado de infectologia.** 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 2167p.

CAPITULO III

Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp. em equinos no município de Araguaína-TO.

**PREVALÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE
SALMONELLA SPP. EM EQUINOS NO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA-TO.**

**(PREVALENCE AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF
SALMONELLA SP IN EQUINE IN THE MUNICIPALITY OF ARAGUAÍNA-
TO.)**

Resumo

Dentre os problemas que afetam os equinos, os relacionados ao trato gastrointestinal são um dos mais importantes e nessa temática destacam-se os quadros diarréicos que são elencados entre as principais causas de óbito na espécie. *Salmonella* spp. está entre os agentes etiológicos envolvidos nesses quadros diarreicos, sendo um dos mais importantes patógenos para os animais em todo o mundo e de grande preocupação no contexto de saúde pública. Desta forma objetivou-se com esse estudo determinar a prevalência de *Salmonella* spp. em equinos no município de Araguaína-TO a partir de amostras fezes, utilizando técnica de isolamento e identificação bacteriológica e sorologia, bem como estabelecer a susceptibilidade destas aos principais antimicrobianos utilizados em atendimentos clínicos a espécie. Foram colhidas por palpação transretal amostras de fezes de 72 equinos, machos e fêmeas, de idade variada e livre de problemas entéricos. A prevalência encontrada para *Salmonella* spp. foi de 4,17% (3/72) e os antibióticos mais indicados para o uso em equinos de Araguaína são ciprofloxacina, sulfa/trimetropim, meropenem, gentamicina, sulfonamida e cloranfenicol. Conclui-se que os equinos não são portadores de *Salmonella* e que, os animais infectados e clinicamente sadios, podem exercer papel notório na disseminação do agente e na infecção de animais e seres humanos. Ainda, que a cultura de fezes e o antibiograma são fundamentais na rotina clínica e que a ciprofloxacina, a sulfa/trimetropim, o meropenem, a gentamicina, a sulfonamida e o cloranfenicol são os antibióticos indicados para uso em equinos de Araguaína com salmonelose.

Palavras –chave: Equinos, Salmonelose, Isolamento bacteriano, Gram-negativas

Abstract

Among the problems that affect horses, those related to the gastrointestinal tract are one of the most important, and in this theme, the diarrheal conditions that are listed among the main causes of death in the species. Among the etiological agents involved in these tables is *Salmonella sp*, one of the most important pathogen for animals worldwide and of great concern in the context of public health. The objective of this study was to determine the prevalence of *Salmonella spp*. In equines in the municipality of Araguaína from faeces samples, using isolation technique and bacteriological identification, serology, as well as establish the susceptibility of these to the main antimicrobials used in clinical care the species. Stool samples from 72 male and female horses of different age and free from enteric problems were collected by transretal palpation. The prevalence found for *Salmonella spp*. Was 4.17% (3/72) and the most indicated antibiotics for use in Araguaína horses with salmonellosis are ciprofloxacin, sulfa / trimethoprim, meropenem, gentamycin, sulfonamide and chloramphenicol. It is concluded that horses are not carriers of *Salmonella* and that, the animals infected and clinically healthy, may be related to the dissemination and dissemination of human protein and humans in humans. Furthermore, culture and antibiogram are fundamental in the clinical routine and that deciprofloxacin, a sulfa / trimethoprim, meropenem, a gentamicin, a sulfonamide and chloramphenicol are the antibiotics indicated for use in Araguaína horses with salmonellosis.

Key-words: Equine, Salmonellosis, Bacterial isolation, Gram-negative

Introdução

Segundo o IBGE (2012), o Brasil possui o quarto maior rebanho de equinos do mundo, com 5,3 milhões de cabeças. Destas, aproximadamente 756 mil estão distribuídas na região Norte do país, sendo que 195.698 mil localizadas no Estado do Tocantins. Nesta região, além do uso na lida com o gado, os equinos são muito utilizados no transporte urbano, na tração e em competições equestres, o que exige um aperfeiçoamento constante dos profissionais envolvidos, principalmente do clínico veterinário, de quem se espera uma presteza nos meios de prevenção, diagnóstico e tratamento das enfermidades.

Dentre os problemas que afetam os equinos, os relacionados ao trato gastrointestinal são os mais importantes (TRAUB-DARGATZ et al., 2000), sendo que a diarreia está entre as principais causas de óbitos na espécie, mesmo que meios para diagnosticá-la, monitorá-la e tratá-la tenham tido avanços consideráveis (FEARY; HASSEL, 2006). A *Salmonella spp*. é um dos agentes que desencadeiam o quadro em equinos (MEIRELLES et al., 2008; OLIVO, 2013).

O gênero *Salmonella* é reconhecido como um dos patógenos mais importantes para os animais em todo o mundo e de grande preocupação no contexto de saúde pública, devido ao seu envolvimento em casos e surtos de infecções e toxi-infecções de origem alimentar em seres humanos (WRAY; WRAY, 2000). Pelo fato de poder ser encontrada nas fezes de animais com e sem sinais entéricos (RADOSTITS; GAY; HINCHCLIFF, 2007), o contato de pessoas com equinos portadores de *Salmonella* spp. e sem as devidas condições higiênicas pós-contato, oferece potencial risco zoonótico (HOELZER et al., 2011). O maior risco para o desenvolvimento de bacteremia e sepse em animais está relacionado com a *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium (MAGDESIAN, 2005).

O principal modo de transmissão de *Salmonella* é a via fecal-oral, no entanto, transmissão aérea também é possível (OLIVEIRA et al., 2009). São reconhecidas basicamente quatro tipos de manifestações após o contágio: 1) infecções inaparentes com estados de portador latente ou ativo; 2) depressão, febre e anorexia, sem diarreia ou cólica; 3) enterocolite fulminante ou superaguda com diarreia; 4) septicemia.

A procura de uma metodologia ideal para o isolamento de *Salmonella* spp. tem sido constante entre os pesquisadores, o que tem trazido melhorias na especificidade e na sensibilidade, bem como simplicidade e rapidez na execução dos exames bacteriológicos. Numerosos métodos e técnicas clássicas e moleculares vêm sendo descritos, visando ao isolamento de diferentes sorovares de *Salmonella* spp. procedentes de distintas fontes de infecção. Contudo, o cultivo bacteriano ainda é o padrão-ouro para diagnóstico desta enterobactéria (BRASIL, 2011; CHAPMAN, 2006).

Um importante fator de complicação no diagnóstico da salmonelose em equinos é a ocorrência de portadores aparentemente saudáveis. Nesse sentido, pode-se dizer que existem dois tipos de portadores: os portadores ativos, que excretam pequenos números do organismo intermitentemente nas fezes e, os portadores silenciosos, que não derramam no ambiente, mas abrigam *Salmonella* spp. nos gânglios linfáticos mesentéricos ou na mucosa do ceco e cólon ascendente. Quando estes últimos são expostos a situações estressantes (parasitas, transporte, antibioticoterapia ou cirurgia) podem desenvolver a salmonelose equina (VAN DUIJKEREN et al., 1995).

Este estudo teve por objetivo conhecer a prevalência da *Salmonella* spp. em equinos no município de Araguaína-TO bem como verificar a susceptibilidade dela a diferentes antimicrobianos.

Material e Métodos

Delineamento experimental e Análise estatística

O tamanho da amostra (n) foi calculado levando-se em consideração o tamanho da população de equinos cadastrados na Agência de Defesa Agropecuária do Tocantins-ADAPEC-Julho/2016) que era de 5500 animais, a frequência (%) hipotética (antecipada) de 5% (TRAUB-DARGATZ et al., 2000; CHAPMAN, 2006), intervalo de confiança de 95% e EDDF = 1. A fórmula empregada foi:

$$n = [EDFF * Np(1-p)] / [(d^2 / Z^2(1-\alpha/2)^2 * (N-1) + p*(1-p)]$$

A análise dos dados foi realizada de forma descritiva, por meio de frequências percentuais.

Coleta das amostras

Foram colhidas amostras de fezes diretamente da ampola retal de 72 equinos de raça, sexo e idade distintos, pertencentes a diferentes regiões do município de Araguaína - TO. As coletas se deram em dias diferentes e todas no início da manhã. Apenas foram incluídos no projeto aqueles que não tinham recebido antibioticoterapia nos últimos seis meses e que não apresentavam qualquer alteração que revelasse problema no trato gastrointestinal, como diarreia ou cólica. O referido trabalho teve aprovação no comitê de ética de uso de animais da UFT (CEUA/UFT) sob o número 23101.006989/2016-23.

Juntamente com a coleta das fezes, foi feita a anamnese com os responsáveis pelos animais, onde se levantou informações quanto a idade, manejo nutricional e manejo sanitário a que os animais eram submetidos.

Após contenção física dos animais, as amostras de fezes foram coletadas, utilizando-se luva apropriada, sendo uma para cada animal. Para evitar a interferência ou prejuízo em qualquer etapa do processamento das amostras, utilizou-se água destilada para “lubrificar” a luva e facilitar a introdução da mão na ampola retal. Aproximadamente um grama de fezes (HENDRIX, 2006) foi coletado por animal e imediatamente colocado em tubo do tipo Falcon previamente identificado e

acondicionado em isopor com gelo reciclável. Nesse tubo havia 2ml de PBS-1x (NaCl 0,015M, PO₄ 0,01M, pH 7,2) utilizado para diluição da amostra. Em seguida, o tubo retornava à caixa de isopor onde permanecia até a chegada ao Laboratório de Microbiologia da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, onde as amostras foram processadas. O tempo entre a coleta da amostra e o início do processamento não excedeu duas horas.

Isolamento e Identificação bacteriana

Nesta etapa, uma alíquota de 1,0 mL da amostra contida no tubo Falcon era inoculada em 9 mL de caldo selenito cistina e outro 0,1 mL em 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, contidos em diferentes tubos de ensaio, limpos, identificados e esterilizados em autoclave conforme recomendado (121°C por 15 min) por Pelczar (1997). Após a inoculação, os tubos eram incubados a 37°C por 24 horas (PESSOA e PEIXOTO, 1971).

A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, repicou-se no ágar *Salmonella-Shigella* (SS) e no meio ágar MacConkey, estriando de forma a se obter colônias isoladas com o auxílio de alça bacteriológica. Ambos previamente preparados em placas de Petris estéreis e descartáveis. Então, novamente incubou-se a 37°C por mais 24 horas.

Para a identificação das colônias obtidas no plaqueamento seletivo, de duas a quatro colônias com características sugestivas de *Salmonella* spp. (colônias lactose negativas no Mac Conkey e amareladas ou amarelas com pontos negros no centro no Agar SS). Para triagem foram repicadas em tubos contendo meio inclinado Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Agar Lisina-Ferro (LIA), por picada central até o fundo, seguido de espalhamento na superfície e incubação durante 24h a 37 °C. Cada amostra foi individualmente analisada, segundo a metodologia proposta por Krieg e Holt (1984).

A partir desta triagem nos meios seletivos e indicadores foram realizadas provas bioquímicas complementares necessárias para confirmar *Salmonella* spp., tais como: uréia, produção de indol, motilidade, Vermelho de Metila, citrato, glicose, lactose e sacarose (BRASIL, 2011). As amostras confirmadas foram semeadas em tubo contendo Agar nutriente a fim de conservá-las para posterior utilização.

Deteção dos sorogrupos *Salmonella* spp. por aglutinação em lâmina

A partir do ágar nutriente, as amostras foram repicadas em Agar BHI (Brain Heart Infusion) e incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. A fim de se obter a suspensão bacteriana, com o auxílio de swabe pegou-se a massa bacteriana e colocou-se em espendorf contendo 1 ml de solução salina até atingir turvação semelhante ao tubo 3 da escala de MacFarland (BRASIL, 2011).

Para a reação utilizou-se 10 µL da suspensão bacteriana e 10 µL do anti-soro seguindo as recomendações do fabricante. Para determinação dos sorogrupos utilizou-se soro *Salmonella* polivalente, anti *salmonella* somática polivalente e o grupo O fator 9.

Teste de sensibilidade

As cepas estocadas em ágar nutriente foram repicadas em ágar BHI e incubadas a 37 °C por 24 horas, para crescimento e obtenção de colônias isoladas. Após o crescimento, transferiu-se de uma a três colônias para um microlitro de caldo Mueller Hinton e incubou-se a 37 °C até que se atingisse a turvação igual a de uma solução padrão nº 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente 10⁸ microrganismos/mL). Este processo foi realizado com todas as amostras de *Salmonella* spp.

Após duas a oito horas de incubação, semeou-se, com o auxílio de um swabe estéril, homogeneamente o inócuo em placas contendo Mueller Hinton Agar (MHA). Após a absorção, foram inseridos os polidiscos (Sensifar® e Laborclin®) utilizando uma pinça previamente flambada, e em seguida incubou-se a 37° C por 24 horas, quando então procedeu-se com a leitura dos resultados. O antibiograma e sua interpretação seguiram o método recomendado pelo CLSI (2011) (antigo NCCLS, o qual é baseado no método de Bauer et al., 1966, originalmente).

Os antibióticos utilizados foram: betalactâmicos+inibidores de betalactamase (Amoxicilina + Ac. Clavulânico-20/10µg), aminoglicosídeos (Gentamicina- 10 µg), quinolonas (Ciprofloxacina - 5µg), Carbapenens (Meropenem – 10µg), fluoroquinolona (Enrofloxacina - 5 µg), sulfas (Sulfonamida - 300 µg; Sulfazotrim - 25 µg) Cloranfenicol - 30µg, Florfenicol - 30 µg e Tetraciclina - 30 µg.

O resultado consistiu na medição do diâmetro da zona de inibição com a ajuda de um paquímetro em milímetros. A interpretação do teste foi baseada na tabela que

determina as medidas padrões dos halos de inibição de cada antimicrobiano segundo a seguinte classificação: Sensível - quando uma infecção por uma determinada cepa pode ser tratada adequadamente com a dose de agente antimicrobiano recomendada para esse tipo de infecção e espécie infectante; Intermediário - implica eficácia clínica nos sítios corpóreos de concentração fisiológica das drogas ou quando é possível usar uma dose da droga maior que a normal; Resistente – quando as cepas não são inibidas pelas concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos (BRASIL, 2005).

Resultados e Discussão

Do total de animais avaliados, três (4,17%) foram positivos para *Salmonella spp.* e 69 (95,83%) negativos. Os animais positivos tinham entre três e seis anos de idade, sendo dois machos da raça Quarto-de-milha (66,67%) e uma fêmea sem raça definida (33,33%).

A prevalência encontrada está abaixo da hipotetizada para esse trabalho (5%), bem como da reportada por Guedes et al. (2011) de 7,5%, por Lucas (2012) de 11,5%, por Donnelly; Corbeil (1983) de 12%, e até mesmo dos 5,5% a 13% encontrados em trabalhos com animais que apresentavam doença gastrointestinal (PALMER e BENSON; WHITLOCK, 1985; EWART et al., 2001; ERNST et al., 2004). Porém, está acima do encontrado por Chapman (2006) (3,46%) em cavalos de corrida e por TRAUB-DARGATZ et al. (2000) em cavalos dos Estados Unidos da América avaliados entre 1998 e 1999 (0,8%). Van Duijkeren et al., (1995) realizaram um estudo comparativo, onde confrontaram a coleta múltipla de fezes (três amostras coletadas em intervalos de 24 horas) com a coleta única, e concluíram que aumenta-se a probabilidade de encontrar *Salmonella spp.* conforme se aumenta o número de coletas. Talvez, isso possa ter interferido no resultado de nosso estudo, porém não se pode afirmar tal fato, uma vez que trabalhos realizados por outros autores como Guedes et al. (2011) e Lucas (2012) e que utilizaram em sua metodologia a coleta única, obtiveram prevalência maior.

Dos animais positivos na presente pesquisa, dois eram da mesma propriedade, estavam sob a responsabilidade da mesma pessoa, viviam no mesmo ambiente (com muita sujidade), realizavam a mesma atividade (vaquejada) e com a mesma frequência e, tinham contato com galinhas, além de cães, porcos e bovinos. A forma principal de transmissão do agente é a rota fecal-oral (OLIVEIRA; CARVALHO; GARCIA, 2006) e

o consumo de alimento ou água contaminados provavelmente foi a maneira como os animais se infectaram na propriedade. Segundo Chapman (2006) enquanto um cavalo está eliminando *Salmonella* spp., precauções são recomendadas para prevenir a infecção em outros animais susceptíveis na fazenda.

Como esses animais viajam frequentemente para participar de competições, não se pode descartar a infecção por contato com outros animais infectados. Ainda, cavalos de corrida foram relacionados a uma série de fatores de risco que podem aumentar a chance dos mesmos em de adquirir a *Salmonella* spp. Um dos mais importantes é o estresse, que pode ser físico e estar relacionado ao exercício muscular intenso em treino e provas e/ou emocional, estando esse ligado ao transporte, tédio, disfunção social, medo de equipamentos ou do cavaleiro e mudança ambiental (DONNELLY; CORBEIL, 1983). Esse fator, também pode ser aplicado para animais de vaquejada, que são constantemente submetidos a estresse físico e emocional e serem mais pré-dispostos a se infectarem.

O terceiro animal era de outra propriedade e era utilizado para tração no centro urbano de Araguaína. Como a coleta foi realizada no local de trabalho, não se tem informações quanto ao ambiente que vivia e se tinha contato com outros animais. Porém, uma informação importante obtida na anamnese foi de que o animal recebia frequentemente sobras de alimentos de consumo humano. Provavelmente, esse alimento estava contaminado e foi o meio de transmissão. Vale ressaltar, que o fator estresse também deve ser considerado, pois é frequente na cidade de Araguaína o uso na tração de animais debilitados, exercendo seu trabalho sob altas temperaturas, sob privação hídrica e puxando carroças com excesso de peso.

Os animais positivos eram adultos e apresentavam-se assintomáticos. Este fato coloca esses animais em papel de destaque não só na disseminação do agente como também em relação à saúde pública. Esses animais podem ser mantenedores de linhagens patogênicas nos criatórios e como prováveis fontes de infecção tanto para outros animais como para humanos (RIBEIRO et al., 2010). Alguns sorotipos identificados em potros já foram encontrados na salmonelose em humanos, o que serve de alerta para o estabelecimento da relação cavalos assintomáticos e sua influência na saúde pública (LUCAS, 2012). Hofer et al. (2000) relataram em equinos de abatedouros

ocorrência de sorovares comuns em processos entéricos humanos, e de outras espécies animais.

No presente trabalho, as amostras de *Salmonella* spp. apresentaram maior sensibilidade “in vitro” ao ciprofloxacino, a sulfa/trimetropim, ao meropenem, gentamicina, sulfonamida, (100%) e ao cloranfenicol (90%). Já Guedes et al. (2011) encontraram em seu estudo 100% de sensibilidade ao ácido nalidíxico, a ciprofloxacina, a norfloxacina e a sulfazotrim.

Os antibióticos com piores desempenhos foram a tetraciclina e enrofloxacino (66,67%) e isso se deve provavelmente à venda sem controle de produtos que contenham em sua formulação os princípios e/ou o uso errôneo dos mesmos, onde frequentemente identificamos o emprego de subdosagem. O uso indevido de antimicrobianos e a resistência bacteriana foi citada por Who em (2005), que descreveu que quando um grupo (fluorquinolonas) foi licenciado apenas para uso humano, não se observou aumento significativo na resistência da *Salmonella* spp. Já, quando foi posteriormente licenciado para uso em animais de produção, houve relatos de linhas multiresistentes de *Salmonella* spp. em animais e humanos.

Conclusão

Conclui-se que os equinos não são portadores de *Salmonella* e que, os animais infectados e clinicamente sadios, podem exercer papel notório na disseminação do agente e na infecção de animais e seres humanos. Ainda, que a cultura de fezes e o antibiograma são fundamentais na rotina clínica e que a ciprofloxacina, a sulfa/trimetropim, o meropenem, a gentamicina, a sulfonamida e o cloranfenicol são os antibióticos indicados para uso em equinos de Araguaína com salmonelose.

Referências

- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. G.; TURK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal Clinical Pathology**, v.45, p. 493-496, 1966.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Direitos de Tradução e Reprodução). **Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana**: 15º Suplemento Informativo. M100-S15. Vol. 25 No. 1. 2005.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp.** Brasília – DF. 2011.

CHAPMAN, A. M. **Characterizing salmonella fecal shedding among racehorses in Louisiana**. Mestrado (Dissertação) – Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and mechanical College. Dezembro. 2006. 69fls.

CLSI - Performance standards for Antimicrobial Suceptibility Test. Twenty- first Information Supplement. v.31, n.1, January, 2011.

DONNELLY, S. G., CORBEIL, L. B. A note on shedding of Salmonella Tuscon by racing horses. **Prev Vet Med**, 1983. **1**: p. 383-388.

ERNST, N. S. et al. Risk factors associated with fecal Salmonella shedding among hospitalized horses with signs of gastrointestinal tract disease. **J Am Vet Med Assoc**. **225**(2): p. 275-81. 2004.

EWART, S. L. et al. Identification of sources of *Salmonella* organisms in a veterinary teaching hospital and evaluation of the effects of disinfectants on detection of *Salmonella* organisms on surface materials. **J Am Vet Med Assoc**, 2001. **218**(7): p. 1145-51.

FEARY, D. J.; HASSEL, D. M. Enteritis and Colitis in Horses. **Vet Clin Equine**, 22, 437– 479. 2006.

GUEDES, I. B. et al. Presença de *Salmonella spp.* em equinos de vaquejada pertencentes à microrregião de Castanhal-Pará. **Revista de educação continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**.v.9, n.1, 2011. p. 75.

HOELZER K.; SWITT A. I. M.; WIEDMANN M. Review: Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. **Veterinary Research** 2011 42:34.

HOFER, E. et al. Sorovares de Salmonella em carne de equídeos abatidos no nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras**. 20(2):80-84, abr./jun. 2000.

LUCAS, T. M. **Ocorrência e investigação de fatores de virulência em enteropatógenos de origem bacteriana em potros até três meses de idade, com e sem diarreia, criados no interior do estado de São Paulo**. Botucatu. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. 2012. 90f

MAGDESIAN, K. G. Neonatal Foal Diarrhea. **Vet Clin Equine**. v. 21,p. 295– 312, 2005.

MEIRELLES, M. et al. Enterite por coronavírus em potros puro sangue inglês em um haras no Rio Grande do Sul. **XVII Congresso de Iniciação Científica e X Encontro de Pós Graduação**. 2008.

OLIVEIRA, C. J.; CARVALHO, L. F.; GARCIA, T. B. Experimental airborne transmission of Salmonella Agona and Salmonella Typhimurium in weaned pigs. **Epidemiol Infect**, 134(1): p. 199-209. 2006.

OLIVO, G. **Estudo clínico e etiológico da diarreia em potros**. 2013. 112f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

PALMER, J. E.; BENSON, C. E.; WHITLOCK, R. H. Salmonella shed by horses with colic. **J Am Vet Med Assoc**, 187(3): p. 256-7. 1985.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicina: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Philadelphia: Saunders, p.2162. 2007.

RIBEIRO M. G., et al. Caracterização de sorotipos em linhagens do gênero *Salmonella* isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. **Pesq. Vet. Bras.** 30(2):155-160, fevereiro 2010.

TRAUB-DARGATZ, J. L. et al. Fecal shedding of Salmonella spp by horses in the United States during 1998 and 1999 and detection of Salmonella spp in grain and concentrate sources on equine operations. **J Am Vet Med Assoc**, 217(2): p. 226-30. 2000.

VAN DUIJKEREN, E. et al. Diagnosing salmonellosis in horsesculturing of multiple versus single faecal samples. **The veterinary quarterly**, vol 17, no 2, june, 1995.

WHO – WORLD HEALTHY ORGANIZATION. Drug- resistant Salmonella. **Fact sheet** [online], n. 139, abril, 2005.

WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in Domestic Animals**. 1.ed. New York: CABI Publishing. 463p. 2000.