

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

SALMONELOSE SEPTICÊMICA EM BEZERROS
COM IDADE ENTRE 60 E 90 DIAS:

RELATO DE CASO

PHILIFE PIMENTA NUNES

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2014

Philippe Pimenta Nunes

SALMONELOSE SEPTICÊMICA EM BEZERROS
COM IDADE ENTRE 60 E 90 DIAS:

RELATO DE CASO

Monografia apresentada à UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista - Residência em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Clínica Médica de Ruminantes

Orientador(a): Elias Jorge Facury Filho

BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
2014

N972s

Nunes, Philipe Pimenta, 1989-

Salmonelose septicêmica em bezerros com idade entre 60 e 90 dias: relato de caso / Philipe Pimenta Nunes. – 2014.

53 p. : il.

Orientador: Elias Jorge Facury Filho

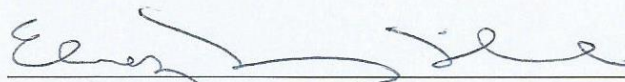
Monografia apresentada à UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista – Residência em Medicina Veterinária. Área de concentração: Clínica Médica de Ruminantes.

Inclui bibliografia

1. Bezerro – Doenças – Diagnóstico. 2. Salmonelose em animais – Diagnóstico.
I. Facury Filho, Elias Jorge. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

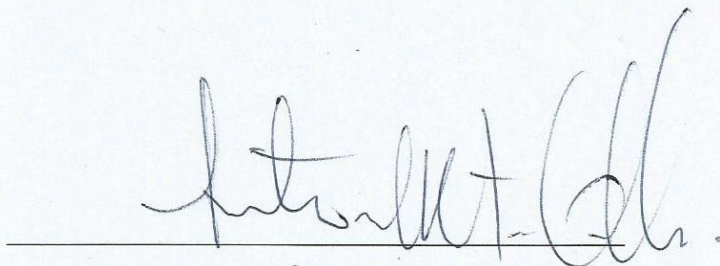
CDD – 636.208 96

Monografia defendida e aprovada em 22 de dezembro de 2014, pela Comissão Examinadora constituída por:

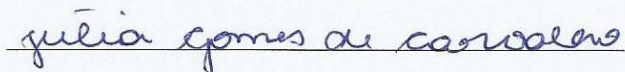


Prof. Elias Jorge Facury Filho

Presidente



Prof. Antônio Último de Carvalho



Júlia Gomes de Carvalho

Aos meus pais Márvido e Margarete, e ao meu irmão Helton que confiaram e me apoiaram a todo momento. À Alessandra por me estimular, ajudar, alegrar e enfrentar todas as dificuldades de cabeça erguida, perseverando e sem perder a fé.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus melhores orientadores, tutores e preceptores em Clínica Médica de Ruminantes, Professores Elias Jorge Facury Filho, Antônio Último de Carvalho, Lívio Ribeiro Molina e Rodrigo de Melo Meneses por todos os ensinamentos durante essa etapa da minha vida profissional e pessoal.

Agradeço à toda equipe do setor de Clínica de Ruminantes da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFGM), doutorandos, mestrandos, residentes e alunos de iniciação científica pelo apoio teórico-prático, pela superação das dificuldades impostas, pela paciência nos momentos mais difíceis e pelos momentos de alegria e descontração durante o período da residência.

Agradeço a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, participaram da minha formação como Médico Veterinário Especialista em Clínica Médica de Ruminantes.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Epidemiologia	14
2.2. Patofisiologia	15
2.3. Sintomatologia clínica.....	18
2.4. Alterações macro e microscópicas	19
2.5. Diagnóstico	20
2.6. Diagnósticos diferenciais	22
2.6.1. Babesiose	22
2.6.2. Leptospirose	22
2.6.3. Pasteurelose	23
2.6.4. Intoxicação por ionóforos	24
2.7. Tratamento	25
2.8. Controle	26
3. RELATO DE CASO	27
3.1. Materiais e métodos	27
3.2. Resultados	30
3.2.1. Exame físico.....	30
3.2.2. Patologia clínica	31
3.2.3. Alterações macroscópicas	31
3.2.4. Alterações microscópicas	32
3.2.5. Diagnóstico etiológico	36
3.3. Discussão	37
4. CONCLUSÃO	40
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
7. ANEXOS	50
7.1. Anexo 1.....	50
7.2. Anexo 2	51
7.3. Anexo 3	52
7.4. Anexo 4	53

LISTA DE ABREVIATURAS

AINEs – Anti-inflamatórios Não Esteroidais;
ALT – Alanina Aminotransferase;

AST – Alanina Aspartatotransferase;
 CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média;
 CID – Coagulação Intravascular Disseminada;
 ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Ensaio Imunoenzimático);
 FA – Fosfatase Alcalina;
 GGT – Gamaglutamil Transferase;
 HCM – Hemoglobina Corpuscular Média;
 HV-UFMG – Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais;
 IgA – Imunoglobulina de Classe A;
 IgM – Imunoglobulina de Classe M;
 IL – Interleucinas;
 LPS – Lipopolissacarídeo/Endotoxinas;
 MALT – Tecido Linfoide Associado à Mucosa;
 NO – Óxido Nítrico;
 PCR – Reação em Cadeia da Polimerase;
 PGs – Prostaglandinas;
 PPT – Proteína Plasmática Sérica;
 SAM – Soroaglutinação microscópica;
 SCV – Vacúolo Contendo *Salmonella* sp.;
 SIRS – Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica;
 SPI-1 – Primeira Ilha de Patogenicidade da *Salmonella* sp.;
 SPI-2 – Segunda Ilha de Patogenicidade da *Salmonella* sp.;
 TNF α – Fator de Necrose Tumoral Alfa;
 TTSS-1 – Primeiro Sistema de Secreção Tipo Três;
 TTSS-2 – Segundo Sistema de Secreção Tipo Três;
 UFC – Unidades Formadoras de Colônia;
 VCM – Volume Corpuscular Médio;
 VG – Volume Globular;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Alterações macroscópicas encontradas durante as necropsias de quatro bezerras acometidos com salmonelose septicêmica por <i>Salmonella</i> Dublin	33
Figura 2	Corte histológico de pulmão de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por <i>Salmonella</i> Dublin	34
Figura 3	Corte histológico de pulmão de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por <i>Salmonella</i> Dublin	34
Figura 4	Corte histológico de fígado de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por <i>Salmonella</i> Dublin	35

Figura 5	Corte histológico de baço de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por <i>Salmonella</i> Dublin	35
Figura 6	Corte histológico de intestinos grosso de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por <i>Salmonella</i> Dublin	36

RESUMO

A salmonelose septicêmica em bovinos é uma doença infecciosa causada por diversos sorovares de *Salmonella* sp., sendo o sorovar *S. Dublin* mais comumente isolado em surtos da doença. Acomete principalmente bezerros com dois meses de idade, porém poucos são os relatos de infecção natural em bezerros com 60 a 90 dias de vida. Os animais acometidos podem apresentar febre, apatia, inapetência, dispneia, pneumonia, artrite, meningite, necrose de extremidades, diarreia sanguinolenta e morte súbita. Durante um surto de mortalidade em bezerras entre 60 e 90 dias de idade, dos oito animais acometidos apresentando febre, apatia, inapetência, hemorragias petequiais e congestão de mucosas, taquicardia e taquipnéia intensa, quatro vieram a óbito em três dias após início dos sintomas. Foi realizado exame clínico de todos os animais doentes, colheita de sangue e soro para hemograma e perfil bioquímico, pesquisa de hemoparasitas e necropsia dos animais que vieram a óbito. Foi pesquisado *Leptospira* sp. por meio de cultura, microscopia de campo escuro e soroadglutinação microscópica. Foi realizado cultura bacteriológica para isolamento de enterobactérias, PCR para confirmação do gênero *Salmonella* e pesquisa de fatores de virulência para *E. coli*. A sorotipificação dos gêneros encontrados foi realizada pelo Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ - RJ). Após um mês foram colhidas amostras de água, ração, sucedâneo e camas de areia para pesquisa de fontes de infecção e existência de animais portadores de *Salmonella* sp. no rebanho, porém todas as amostras foram negativas na cultura bacteriológica. O isolamento e tipificação de *S. Dublin* das amostras provenientes dos quatro animais necropsiados, associado aos sinais clínicos e resultados de exames complementares, principalmente os de diagnósticos diferenciais, caracterizam um quadro de salmonelose septicêmica por esse agente. Após tratamento com florfenicol 20 mg/Kg de peso vivo, os outros quatro animais acometidos recuperaram-se. Foi realizada uma metafilaxia com florfenicol 10 mg/Kg de peso vivo via leite nos demais animais do bezerreiro, não observando mais casos clínicos. O conhecimento teórico aliado à metodologia sistemática de trabalho são fundamentais para o correto diagnóstico, tratamento e controle da salmonelose septicêmica em bezerros.

Palavras-chave: *Salmonella* Dublin, bezerros, metodologia, diagnóstico.

ABSTRACT

The septicemic salmonellosis in cattle is an infectious disease caused by several serotypes of *Salmonella* sp., with the serotype *Salmonella* Dublin most commonly isolated in outbreaks of the disease. It mainly affects calves at two months of age, but there are few reports of natural infection in calves with 60 to 90 days of life. Affected animals may develop fever, apathy, anorexia, dyspnea, pneumonia, arthritis, meningitis, necrosis of the extremities, bloody diarrhea and sudden death. During an outbreak of mortality in calves between 60 and 90 days of age, of eight animals affected with fever, lethargy, lack of appetite, petechial hemorrhages and congestion of the mucous membranes, tachycardia and tachypnea intense, four died in three days after onset of symptoms. Clinical examination of all sick animals, harvest of blood and serum for hemogram and biochemical profile, hemoparasites research and necropsy of animals that died was performed. *Leptospira* sp. was researched by culture, dark-field microscopy and microscopic agglutination test. Bacterial culture was conducted for isolation of enterobacteria, PCR to confirm the genus *Salmonella* and search virulence factors for *E. coli*. Enterobacteria Laboratory of Oswaldo Cruz Institute (IOC / FIOCRUZ - RJ) performed serotyping of genres found. After a month samples of water, feed, milk replacer and sand beds were collected to research sources of infection and the presence of carrier animals for *S. Dublin* in the herd, but all samples were negative for bacterial culture. Isolation and characterization of *S. Dublin* samples from the four animals necropsied in association with clinical signs and results of laboratory tests, especially the differential diagnoses, feature a case of septicemic salmonellosis by that agent. After treatment with florfenicol 20 mg / kg of body weight, the other four affected animals recovered. Metaphylaxis with florfenicol 10 mg / kg of body weight by milk was held to the other animals, not observing further clinical cases. The theoretical knowledge combined with systematic work methodology are essential for the diagnosis, treatment and control of septicemic salmonellosis in calves.

Keywords: *Salmonella* Dublin, calves, methodology, diagnosis.

1. INTRODUÇÃO

Na bovinocultura leiteira a salmonelose é uma enfermidade de grande importância devido ao aumento da morbidade e mortalidade dos animais além do elevado custo no tratamento dos animais doentes (Mohler e House, 2009). A enfermidade pode acometer as mais diversas categorias animais em um rebanho, causando três tipos de infecção: infecção sistêmica, enterite associada a sepse em animais jovens ou aborto associado a sepse em animais adultos e quadros de enterite sem ocorrência de sepse (Barrow et al., 2010).

A salmonelose é uma doença infecciosa causada por um bastonete, gram negativo, anaeróbio intracelular facultativo, não esporulado, do gênero *Salmonella*, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. O gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies, a *Salmonella bongori* e a *Salmonella enterica*. Esta última por sua vez se subdivide em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*, sendo a primeira subespécie a de maior relevância em medicina humana e veterinária (Reeves et al., 1989; Lax et al., 1995). As subespécies são classificadas em sorogrupos de acordo com o antígeno somático estrutural O e em sorovares de acordo com o antígeno flagelar H (Grimont e Weill, 2007).

Segundo Uzzau et al. (2000) citado por Carvalho (2013), os sorovares de *Salmonella* podem ser também classificados conforme as espécies que estão mais comumente associados a quadros da doença, sendo nomeados como hospedeiros específicos, restritos e generalistas O sorovar hospedeiro específico causa doença em apenas uma espécie específica, como é o caso da *Salmonella* Typhi. O restrito está associado a uma espécie de hospedeiro, mas pode acometer outra espécie eventualmente, como por exemplo a *Salmonella* Dublin. Já o generalista não tem associação específica com uma espécie, podendo causar doença em várias delas, como por exemplo a *Salmonella* Typhimurium.

Dentre os sorovares mais isolados em surtos da doença em rebanhos bovinos, destacam-se *S. Muenster*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium* e *S. Dublin* (Sanford, 1984; Wray e Davies, 2000; Barrow et al., 2010; Carvalho et al., 2014).

A *S. Muenster* é isolada em casos de diarreia e aborto em vacas, em qualquer período gestacional (Sanford, 1984) ou principalmente no terço final da gestação, segundo Radke et al. (2002). Também é isolada em quadros de diarreia em bezerros com 1 mês de idade (Radke et al., 2002) ou em bezerros neonatos lactentes associados à infecção concomitante com *Cryptosporidium* sp., assim como a *S. Infantis* (Carvalho et al., 2014).

A *S. Typhimurium*, é mais comumente isolada em casos de enterite em bezerros com menos de 2 meses de idade, enquanto que a *S. Dublin*, por ser mais invasiva, é normalmente isolada em caso de septicemia, meningoencefalite e artrite séptica acompanhados ou não de enterite em bezerros lactantes e aborto em vacas (Wray e Davies, 2000; Gelberg, 2006; Mohler et al., 2009). Mee (1995), relatou a ocorrência de um surto de salmonelose por *S. Dublin* causando pneumonia e gangrena seca de extremidades em bezerros

à desmama. Porém pouco foi relatado na literatura sobre a ocorrência de salmonelose septicêmica em bezerros no período a desmama e pós-desmama.

O objetivo desse trabalho é promover uma breve revisão de literatura sobre salmonelose septicêmica e relatar a ocorrência de um surto da doença em bezerros com idade entre 60 e 90 dias, descrevendo a metodologia de trabalho, as alterações clínicas e de patologia clínica, os achados macro e microscópicos, a microbiologia e as características biomoleculares para determinação do diagnóstico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia

A salmonelose bovina ocorre em todo o mundo e sua epidemiologia é complexa. Os padrões epidemiológicos de prevalência de infecção e incidência da doença variam muito entre as áreas geográficas de acordo com clima, densidade populacional, manejo, processamento e fornecimento de alimentos aos animais e seus hábitos de consumo, dentre outros. Pesquisas de vários países indicam uma taxa de infecção em torno de 13-15% para rebanhos leiteiros e de 4% para rebanhos de corte (Radostits et al., 2007).

A taxa de morbidade em surtos é elevada chegando a alcançar 50% ou mais, sendo que a morbidade e a mortalidade são maiores em bezerros com menos de 12 semanas de idade e a letalidade pode alcançar 100% se os animais não forem submetidos a tratamento adequado (Radostits et al., 2007).

A fonte de infecção na maioria dos surtos de salmonelose bovina são animais infectados que contaminam outros animais de forma direta ou indireta, tanto pelo contato direto animal-animal quanto pela contaminação do ambiente, principalmente alimento e água. Um animal infectado chega a excretar acima de 10^8 UFC *Salmonella* sp. por grama de fezes, mostrando ser uma potente fonte de infecção. (Mastroeni e Maskell, 2006; Radostits et al., 2007) A principal via de infecção é o contato fecal oral, porém outras vias como contato direto com mucosas do trato respiratório superior e conjuntiva já foram descritas (Mohler et al., 2009). *S. Dublin* também é capaz de infectar o feto dentro do útero, entretanto infecções intrauterinas frequentemente resultam em aborto ou bezerros natimortos (Hinton, 1974).

Parte dos animais positivos para *S. Dublin* não conseguem debelar a infecção e permanecem cronicamente infectados, tornando-se portadores responsáveis pela manutenção da fonte de infecção no rebanho (House et al., 1993). Os portadores podem ser classificados em ativos, passivos e latentes. Os ativos possuem infecção ativa, porém não demonstram sinais clínicos (normalmente animais convalescentes), excretando o agente de forma contínua no ambiente. Os passivos são animais imunocompetentes e que ao ingerirem o agente junto com o alimento, o eliminam sem que haja nenhuma infecção ativa, ou seja, eliminam o agente de forma esporádica no ambiente. Já os latentes, são animais que permanecem com infecção subclínica nos tecidos, porém apenas eliminam o agente nas fezes

sob condições de estresse ou imunossupressão (Mastroeni e Maskell, 2006). Dessa forma, a *S. Dublin* também é considerada hospedeiro adaptada em relação a bovinos, ou seja, são mais facilmente encontradas em suas espécies hospedeiras devido a existência de portadores assintomáticos (Smith, 2009).

No Canadá, McEwen et al. (1988) avaliando a prevalência e distribuição geográfica da Salmonelose em fazendas leiteiras, observou que 2,9% das propriedades apresentavam eliminação intermitente de *S. Muenster* a partir de cultura de filtros de leite. Em estudo avaliando os fatores de risco para que animais infectados com *S. Dublin* se tornem portadores, Nielsen et al. (2004) descreve que novilhas e vacas infectadas próximo ao momento do parto possuem chances significativas de se tornarem portadores, sugerindo que o estresse pré e pós-parto seja um importante fator de risco para o desenvolvimento do estado de portador. Tal pesquisa corrobora com os achados de Spier et al. (1991) que induziu o surgimento de vacas portadoras de *S. Dublin* na glândula mamária por meio de administração de injeções de dexametasona após infecção experimental dos animais pelo agente.

2.2 Patofisiologia

Após a ingestão de alimento contaminado, a *Salmonella* sp. passa pelo esôfago e tem de sobreviver à passagem pelo rúmen, retículo, omaso e abomaso, evitando ser destruída por enzimas digestivas, opsonizações por IgA, defensinas e outros peptídeos antimicrobianos, assim como mecanismos de defesa da imunidade inata (Brandt, 2012). A alta concentração de ácidos graxos voláteis e o baixo pH de rúmen que prevalece quando o bovino está alimentado, não é favorável à passagem e permanência da *Salmonella* sp., reduzindo o número de bactérias que sobrevivem à passagem pelos pré-estômagos. O ácido clorídrico produzido no abomaso normalmente reduziria significativamente a dose infectante de bactérias, porém a *Salmonella* sp. possui uma resposta adaptativa ácido-tolerante que aumenta a sua sobrevivência pelo abomaso (Radostits et al., 2007; Brandt, 2012).

Ao passar pelos pré-estômagos e abomaso, a *Salmonella* sp. coloniza o intestino delgado, na porção distal do íleo, ceco e cólons (Radostits et al., 2007). Estudos mostram que a invasão da *Salmonella* sp. no organismo pode ocorrer por três vias a partir do intestino: invasão de Células M próximo às Placas de Payer, captura por células dendríticas e macrófagos e invasão dos enterócitos (Brandt, 2012).

O processo de invasão celular pela *Salmonella* sp. se inicia a partir da adesão da bactéria à superfície de célula hospedeira por meio de proteínas fimbriais bacterianas, adesinas e glicoproteínas celulares, especialmente das células M. A adesão celular ativa a leitura de um locus do genoma bacteriano denominado Primeira Ilha de Patogenicidade da *Salmonella* (SPI-1). Tal região, considerada também um dos principais fatores de virulência da *Salmonella* sp., codifica um Primeiro Sistema de Secreção Tipo Três (TTSS-1) que induz a produção e deposição de proteínas efectoras diretamente no interior da célula hospedeira. Tais proteínas são responsáveis por alterar o citoesqueleto celular, permitindo a entrada da bactéria no citoplasma por meio de invaginações da membrana celular formando vacúolos contendo a *Salmonella* sp. (SCV) (Mastroeni e Maskell, 2006; Galan, 2007;

Mohler et al., 2009; Barrow et al., 2010; Raynolds, 2010; Brandt, 2012). Além da invasão celular, as proteínas efetoras estão associadas às respostas enteropatogênicas. Após invasão das células M, enterócitos e macrófagos, ocorre a produção de prostaglandinas, sinais quimiotáticos, quimiocina e citocinas como IL-1, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL10, IL-18 e TNF α . Tais citocinas estimulam a hipersecreção de fluidos intraluminais, atraem fagócitos para o lúmen e lâmina própria, desestruturam as junções intercelulares resultando em lesões entéricas e diarreia. (Barrow et al., 2010).

Dentro do SCV, um segundo locus do genoma bacteriano conhecido como Segunda Ilha de Patogenicidade da *Salmonella* (SPI-2) é estimulado e codifica um Segundo Sistema de Secreção Tipo Três (TTSS-2). Esse por sua vez é responsável por produzir proteínas efetoras que irão estabilizar a membrana e modular o transporte do SCV nas células infectadas, promover maiores taxas de replicação bacteriana intracelular e bloquear, dentro dos macrófagos, a fusão dos lisossomos ao vacúolo, impedindo os mecanismos de morte dependentes de óxido nítrico e oxigênio. Dessa forma, o fator de virulência SPI-2 é vital para a sobrevivência intracelular e multiplicação bacteriana dentro dos diversos tecidos espalhados pelo organismo, permitindo assim a ocorrência da forma septicêmica da doença (Shea et al., 1999; Beuzon et al., 2000).

Ao atravessar o epitélio intestinal, após invadir os enterócitos ou as células M, a *Salmonella* sp. pode ser encontrada no interior de células dendríticas ou de macrófagos próximos ao tecido linfóide associado à mucosa intestinal (MALT). A partir disso, a bactéria atinge os linfonodos mesentéricos, induzindo outros tipos de resposta imune ou se distribuindo de forma sistêmica no interior de macrófagos ou como bactéria livre, atingindo a corrente sanguínea via ducto torácico e colonizando diversos tecidos do organismo, dentre eles fígado, baço, rins, pulmão, encéfalo, dentre outros. Quando a *Salmonella* ganha acesso à corrente sanguínea, ele desencadeia o processo de septicemia, também chamado de Choque Séptico ou Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS). (Pullinger et al., 2007).

Quando a *Salmonella* spp. atinge a corrente sanguínea e outros tecidos, ela estimula via antígenos de superfície ou liberação de endotoxinas (LPS), células de defesa do organismo, principalmente macrófagos, a produzirem mediadores da inflamação como fator de necrose tumoral (TNF), interleucina-1 (IL-1), prostaglandinas (PGs) e óxido nítrico (NO) (Flohé et al., 1991; Ebisui et al., 1994). Estes mediadores irão promover inicialmente uma vasodilatação, queda da pressão arterial, refratariedade a agentes vasoconstritores, redução de perfusão tissular, hipóxia tecidual e morte celular, principalmente em fígado, baço e rins, resultando em necrose hepática, esplênica e áreas de infarto renal. Na evolução do processo o animal pode apresentar anúria, insuficiência cardíaca e respiratória, além de coma. Tais alterações hemodinâmicas e fisiológicas resultantes da ação das endotoxinas da *Salmonella* sp. resultam no quadro chamado de choque séptico (Vicent, 2001; Fracasso, 2008).

A presença das endotoxinas (LPS) da *Salmonella* sp. associada à estimulação da produção de TNF e IL-1, irão promover ativação do sistema de complemento, extensa lesão de

células endoteliais, com exposição do tecido conjuntivo subendotelial, levando a ativação de plaquetas, do fator XII (fator de Hageman) e fator III (fator tissular ou tromboplastina). A vasculite promovida tanto pelo contato direto do LPS da *Salmonella* spp. quanto pela lesão tecidual provocada pelos mediadores inflamatórios, irão ativar a cascata de coagulação tanto pela via intrínseca quanto extrínseca (McGavin e Zachary, 2006; Maxie e Robinson, 2007; Greene, 2012). O desequilíbrio existente entre a formação de trombos e a fibrinólise pela ação da plasmina ativada pelo fator XII, irá determinar a formação de trombose ou a ocorrência de diátese hemorrágica. Além disso, a ativação da coagulação resulta na ativação do sistema calicreína-cinina, com produção de cininas que irão aumentar a permeabilidade vascular, promover hipotensão e posteriormente choque (Maxie e Robinson, 2007; Greene, 2012).

Diante disso, a salmonelose septicêmica também pode lavar a ocorrência do quadro de coagulação intravascular disseminada (CID) ou diátese hemorrágica, dependendo da intensidade de consumo dos fatores de coagulação. As apresentações clínicas da CID são choque, falência múltipla dos órgãos, trombose e/ou hemorragia. O choque decorrente da CID é resultado da diminuição do retorno venoso ao coração, somado ao aumento da pressão arterial sistêmica e pulmonar devido à trombose (Maxie e Robinson, 2007).

Animais que vem a óbito decorrente de CID podem apresentar hemorragias petequiais a equimoses nas mucosas, serosas e pele, e apresentar envolvimento trombótico ou hemorrágico de alguns órgãos internos. Histologicamente os microtrombos são associados a congestão, edema, hemorragia e necrose. Tais microtrombos são mais facilmente observados em capilares cerebrais, glomérulos renais, adrenais, pulmões e coração, porém podem ocorrer em qualquer órgão (Maxie e Robinson, 2007).

Durante o processo septicêmico da salmonelose, a associação da SIRS e da formação de microtrombos pulmonares, promovem o aumento da pressão arterial pulmonar. Além da aglomeração de *Salmonella* sp. associado a intenso infiltrado neutrofilico intersticial e perivascular, ocorre a formação de edema e hemorragias pulmonares, resultando em alterações clínicas como dispneia aguda, o animal se mostra ofegante e com angústia respiratória, que em alguns casos evolui rapidamente para a morte (Caswell e Williams, 2007).

Alguns animais que se recuperam da salmonelose septicêmica podem desenvolver necrose de extremidades como ponta de cauda, ponta de orelha e extremidade distal dos membros posteriores (Kersjes et al., 1966). São hipóteses de causas para esse achado a ocorrência de endotoxemia, êmbolos sépticos, CID e isquemia acentuada (Hamblin, 2000; Maxie e Robinson, 2007). Porém acredita-se que o processo de necrose de extremidades deve ocorrer devido a uma anemia hemolítica imunomediada pelo frio, chamada de aglutinação pelo frio (Thompson, 1995). Em condições de frio, as imunoglobulinas de classe M (IgM) produzidas como resposta imune primária à *S. Dublin*, promovem reação cruzada com as hemácias do hospedeiro, ligando-se à membrana das mesmas e formando agregados de hemácias. Acredita-se que esses agregados eritrocitários sejam responsáveis

pela obstrução dos vasos, que irá resultar em isquemia severa e necrose das extremidades (Loeb et al., 2006).

2.3 Sintomatologia clínica

A *S. Dublin* pode ser encontrada na corrente sanguínea quinze minutos após a ingestão da mesma e dezoito minutos nos linfonodos mesentéricos em bezerros mais velhos. Uma vez estabelecida a infecção sistêmica, a Salmonelose como doença se desenvolve, apresentando-se na forma de septicemia, enterite, artrite, meningoencefalite, aborto, pneumonia, gangrena e necrose de extremidades, além de se alojar em diversos tecidos do organismo como resultado da bacteremia (Radostits et al., 2007; Mohler et al., 2009; Brandt, 2012; Halimi et al., 2014).

A Salmonelose associada a enterite e diarreia por *S. Typhimurium* acomete bezerros com menos de dois meses de idade, com o pico em torno das três semanas de vida. Já a doença clínica por *S. Dublin* pode ocorrer em animais neonatos com poucas semanas de vida, por volta dos dois meses de idade e em animais adultos (Mastroeni e Maskell, 2006; Radostits et al., 2007).

Segundo Nielsen (2013), as infecções por *Salmonella* Dublin podem ser classificadas em hiperagudas e agudas. As infecções hiperagudas são caracterizadas por choque hemotóxico, muitas vezes sem sinais clínicos específicos e mortalidade elevada em rebanhos onde nunca aconteceu a doença, no primeiro ou segundo dia após o aparecimento dos primeiros sinais clínicos. Na forma aguda, os animais apresentam febre, apatia, pneumonia, artrite, diarreia sanguinolenta e aquosa, e em alguns casos neuropatias, acontecendo em um período entre uma e nove semanas.

Os sinais clínicos iniciais da salmonelose septicêmica incluem febre, depressão mental, fraqueza, dispneia e anorexia. Sinais neurológicos incluindo incoordenação e nistagmo podem ocorrer. Alterações como disenteria e diarreia sanguinolenta também podem estar presentes, embora não sejam comuns (Radostits et al., 2007). A febre inicia por volta de 48 a 72 horas pós infecção podendo se manter até 7 dias após infecção. Porém a ausência de febre não descarta a presença da *Salmonella* sp., uma vez que a resposta febril é transitória e bezerros que não resistem à infecção são hipotérmicos de 12 a 24 horas antes da morte (Mohler et al., 2009). Alguns animais são encontrados mortos sem a apresentação de sinais clínicos prévios.

Os achados laboratoriais mais encontrados são hemoconcentração devido à desidratação, leucopenia por neutropenia, acidose metabólica e aumento da concentração de nitrogênio ureico sanguíneo. Caso não sejam tratados, os animais podem vir a óbito dentro de 5 a 7 dias pós infecção (Mastroeni e Maskell, 2006; Mohler et al., 2009).

Nos casos de necrose ou gangrena seca das extremidades, podem ser observados laminite, inchaços dos membros posteriores abaixo dos boletos e separação da pele sobre os mesmos. A extremidade dos membros se mostram frias, indolores e de aspecto seco ou úmido,

além das falanges se apresentarem separadas do metatarso. Também podem ser observadas extremidades de orelhas endurecidas e deslocadas medialmente e a porção distal da cauda seca e atrofiada (Radostits et al., 2007).

A ocorrência de abortos em animais adultos, que normalmente se dá dos 120 dias de gestação até o final da mesma, pode ser observada sem a manifestação de sinais clínicos prévios de Salmonelose por *S. Dublin* no rebanho. As vacas abortadas apresentam febre, anorexia, retenção de placenta e redução da produção de leite. Os bezerros podem nascer prematuros e virem a óbito no período neonatal. (Hinton, 1974; Radostits et al., 2007).

Em relato de caso de um surto de Salmonelose pelo sorovar *S. Dublin* em bezerros no estado do Maranhão, com idade variando entre 13 dias a 15 meses, Marques et al. (2013) descreve como sinais clínicos iniciais, apatia, febre entre 41,1 e 42,1 °C, redução do apetite, polidipsia, aumento de volume abdominal ventral e edema nas pálpebras superiores. Quadros clínicos que evoluíram rapidamente apresentaram dispneia, tremores musculares, andar em círculos, movimentos mastigatórios, sialorréia, ausência de reflexo pupilar, decúbito e morte após 48 horas do início dos sinais clínicos. Animais tratados inicialmente com antibioticoterapia e que apresentaram melhora parcial dos sinais clínicos iniciais, apresentaram posteriormente secreção nasal seromucosa a purulenta, tosse improdutiva, fezes diarreicas e fétidas, artrite e edema nos membros anteriores. Quanto aos exames laboratoriais foram observados anemia por redução do número de hemácias e do volume globular. Em alguns animais foram observados leucocitose por neutrofilia e desvio à esquerda, enquanto em outros foi observado leucopenia por neutropenia e monocitose relativa.

Em estudo avaliando as alterações hematológicas e bioquímicas em bezerros infectados experimentalmente por *S. Typhimurium*, Santos et al. (2002) encontrou um acentuado quadro de desidratação, caracterizado por aumento nos valores de volume globular, contagem de hemácias e concentração de hemoglobina, acompanhado de acidose metabólica, hipoglicemia, hipoproteinemia por hipoalbuminemia. Além disso, observou também uma resposta inflamatória aguda associada a um aumento do fibrinogênio plasmático e uma severa leucopenia por neutropenia e linfopenia logo após a inoculação dos animais.

2.4 Alterações macro e microscópicas

Em quadros de Salmonelose hiperaguda pode não haver alterações macroscópicas como também pode-se observar congestão pulmonar e hemorragias petequiais em submucosa e subserosa de diversos órgãos, incluindo intestino e coração. No pulmão são observados focos de congestão e infiltrado neutrofilico no septo alveolar. Em quadros de salmonelose aguda com acometimento intestinal, são observadas erosões da mucosa abomasal, enterite catarral hemorrágica difusa associada a ileotiflocolite fibrinonecrótica, linfonodos mesentéricos edemaciados e hemorrágicos associados a depleção linfoide, congestão e infiltrado neutrofilico. Também se observa inflamação da vesícula biliar caracterizada por distensão, edema e colecistite fibrinosa na histopatologia (Hall e Jones, 1977; Mohler et

al., 2009; Marques et al., 2013). Em alguns casos pode-se observar esplenomegalia associada a necrose e granulomas paratifoïdes, hepatomegalia associada granuloma paratifoïdes contendo na histologia infiltrado inflamatório neutrofilico, macrófagos e linfócitos, áreas de necrose de hepatócitos, distensão de sinusoides por infiltrado inflamatório e infiltrado mononuclear periportal. Infiltrado inflamatório associado a agregados bacterianos no interior de vasos sanguíneos, formando trombos nos rins, baço, linfonodos, córtex cerebral e leptomeninges também podem ser visualizados (Radostits et al., 2007; Marques et al., 2013).

Em vacas abortadas devido à *S. Dublin*, normalmente se encontra junto à placenta um enorme número de bactérias intravasculares. Os cotilédones podem se apresentar amarelados, necróticos, com áreas hemorrágicas nas carúnculas, e exsudato purulento entre o endométrio e as membranas fetais. Na histologia placentária são observados intensa multiplicação bacteriana e infiltrado neutrofilico nos tecidos conectivos fetal e materno, associados a congestão, hemorragia e degeneração de células trofoblásticas. Observa-se na parede uterina inflamação aguda com infiltrado neutrofilico associado à necrose epitelial do endométrio. (Hall e Jones, 1977; Radostits et al., 2007).

2.5 Diagnóstico

Sintomatologia clínica e sinais patológicos geralmente são muito inespecíficos para o diagnóstico de infecções por *S. Dublin*. Atualmente os testes mais comumente usados para diagnóstico de infecções por *S. Dublin* incluem exame clínico detalhado, cultura bacteriológica, mensuração de anticorpos contra *S. Dublin* e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Em alguns casos para se aumentar a acurácia, realiza-se a combinação de vários testes (Nielsen, 2013). O diagnóstico depende da associação entre a presença o organismo e a ocorrência da doença, uma vez que a *S. Dublin* pode ser encontrada nas fezes de animais clinicamente saudáveis (Mohler et al., 2009).

O diagnóstico etiológico da Salmonelose pode ser feito por meio de cultura bacteriológica a partir de fezes, sangue, leite, bile, fluidos corporais e tecidos. Amostras de alimento e água podem ser utilizadas para se determinar a fonte do organismo. Por apresentar a característica de infecção persistente sem sinais clínicos no hospedeiro, também chamado portador, a *S. Dublin* é encontrada em linfonodos e outros órgãos internos, sendo eliminada apenas periodicamente no leite e/ou nas fezes (McEwen et al., 1988; Radostits et al., 2007). A vantagem dessa metodologia é sua capacidade de determinar o gênero envolvido na ocorrência da doença e possibilitar a realização de provas bioquímicas e de tipificação, a partir de colônias puras, para se obter exatamente qual o sorovar envolvido. As desvantagens são a baixa sensibilidade (variando de 3,25 a 25,0%), devido ao grande número de microrganismos gram-negativos nas fezes, que muitas vezes dificultam o isolamento de colônias de *Salmonella* sp., e o tempo necessário para confirmação do sorovar envolvido, variando de 48 horas do diagnóstico presuntivo de *Salmonella* sp. até 96 horas para confirmação sorológica e genotípica. Além disso soma-se o período necessário para a realização do antibiograma, com o objetivo de se escolher o melhor e mais eficaz tratamento (Radostits et al., 2007; Mohler et al., 2009; Nielsen, 2013).

A cultura bacteriológica é realizada em etapas que visam isolar a bactéria viva na amostra. Utiliza-se de meios de enriquecimento, como caldo selenito ou tetracionato, e meios seletivos para *Salmonella* spp., como ágar verde brilhante para promover o crescimento da *Salmonella* spp. e inibir outras enterobactérias (Waltman, 2000). As colônias são testadas usando uma série de testes bioquímicos e soroadgrupadas usando soro sorogrupo-específico. A sorotipagem é normalmente realizada por laboratórios de referência pelo método de soroadglutinação rápida baseada nas fórmulas antigênicas para *Salmonella* sp. (Tenover et al., 1997; Grimont e Weill, 2007; Mohler et al., 2009).

Como métodos rápidos para detecção de *S. Dublin* podemos citar o Ensaio Imunoenzimático por captura de antígeno (ELISA) e a PCR. Ambas as técnicas são associadas à cultura em meios enriquecidos para aumentar a sensibilidade da detecção. O ELISA associado à cultura em meio enriquecido apresenta uma sensibilidade de 59% e uma especificidade de 97,6% (Wray e Davies, 2000). A PCR é um teste de alta sensibilidade e especificidade para a detecção de *S. Dublin*, genótipo específico, mais sensível que a cultura microbiológica, requer pouca amostra e fornece resultado em 24 horas após recebimento da amostra em laboratório. A cultura bacteriológica é preferível em relação ao ELISA e à PCR uma vez que o isolamento do microrganismo promove a oportunidade de sorotipagem e teste de sensibilidade à antibiótico (Radostits et al., 2007; Mohler et al., 2009).

Como teste sorológico, utiliza-se o ELISA para pesquisa e mensuração de anticorpos, séricos ou presentes no leite, contra o antígeno O do lipopolissacarídeo da *S. Dublin*. É um teste usado para diagnóstico de animais portadores no rebanho que posteriormente poderão ser abatidos. Com ele é possível diferenciar entre animais não infectados, convalescentes, e portadores que excretam *S. Dublin* no leite (Radostits et al., 2007).

Para diagnóstico de rebanho, a primeira etapa a se realizar é uma pesquisa sorológica individual dos animais. Caso essa seja totalmente negativa, a infecção não ocorre no rebanho. Porém, se alguma amostra se apresentar positiva, é necessário realizar avaliação através de cultura bacteriológica a partir de fezes dos animais, intervaladas de 15 dias, usando meio de enriquecimento (Radostits et al., 2007).

O isolamento de *Salmonella* spp. de sítios sistêmicos à necropsia propõe uma evidência de causalidade. Porém o isolamento do agente a partir do conteúdo intestinal e linfonodos sem demonstração de lesões histológicas compatíveis não necessariamente estabelecem relação de causalidade. Amostragem de animais eutanasiados durante a investigação de um rebanho é melhor que amostrar um bezerro durante a fase aguda da doença (Mohler et al., 2009).

2.6 Diagnósticos Diferenciais

2.6.1 Babesiose

A babesiose em bovinos é causada por protozoários da espécie *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*. Ambos são transmitidos pela picada do carrapato nos estádios de ninfa e adulto, contendo o parasito em sua saliva (Bock et al., 2004). A infecção por *B. bigemina* resulta em hemólise intravascular, com hemoglobinúria, icterícia e consequentemente anemia severa. O animal pode vir a óbito por consequência da anóxia resultante da anemia (Callow et al., 1993; Radostits et al., 2007). Já a infecção por *B. bovis* causa vasodilatação e hipotensão arterial, resultado de estímulo de substâncias vasoativas, como óxido nítrico (NO) e citocinas inflamatórias, além de aumentar a permeabilidade vascular. Em alguns casos pode ocorrer estase venosa, choque hipotensivo, hemorragias e CID, associada a trombose e edema pulmonar que pode ser fatal (Ahmed, 2002). Em bezerras é comum a ocorrência de quadros nervosos devido à adesão das hemácias parasitadas às células endoteliais e outras hemácias, formando microtrombos e obstruindo os capilares cerebrais. Dessa forma há um aumento da pressão arterial cerebral, permeabilidade vascular e edema cerebral. (Brown & Palmer, 1999; Radostits et al., 2007).

Normalmente a babesiose aguda tem um período patente de 3 a 7 dias, com quadros de febre acima dos 40°C, inapetência, depressão, polidipsia, fraqueza, hemoglobinúria, anemia intensa e icterícia em casos mais prolongados e acidose metabólica (de Vos e Potgieter, 1994). Nos casos de babesiose cerebral são observados incoordenação seguidos de paralisia de posteriores, convulsões e coma. Em quadros de babesiose por *B. bigemina*, observa-se hemoglobinúria mais intensa e estado febril menos acentuado em relação à *B. bovis*, além do não comprometimento cerebral (Radostits et al., 2007).

À necropsia de animais com babesiose aguda são observados anemia, palidez de carcaça, sangue hidrêmico, icterícia, hepato e esplenomegalia. Os rins apresentam-se aumentados de tamanho, marrom enegrecidos e a bexiga contendo urina vermelha amarronzada devido à hemoglobinúria. Observa-se também equimoses no endocárdio e pericárdio, além de moderada quantidade de fluido avermelhado no saco pericárdico (Bock et al., 2004; Radostits et al., 2007). Nos quadros de infecção por *B. bovis*, as alterações acima descritas são menos comumente observadas, porém o encéfalo apresenta-se totalmente tingido por uma coloração vermelho cereja, alteração quase que patognomônica desse tipo de infecção, sendo necessária a confirmação através de *squash* do córtex cerebral (Bock et al., 2004).

2.6.2 Leptospirose

A leptospirose em bovinos é causada por uma espiroqueta do gênero *Leptospira*. Existem vários sorovares que acometem bovinos, sendo os mais isolados a *L. Hardjo*, *L. Pomona*, *L. Grippotyphosa* e *L. Icterohemorrhagiae*. Os bovinos são os únicos reservatórios do sorovar *L. Hardjo*, sendo este uma importante causa de aborto e síndrome da queda do leite nessa espécie (Radostits et al., 2007).

A fonte de infecção são animais reservatórios que contaminam o pasto, água e alimento por meio da urina, além de fetos abortados e descargas uterinas. A infecção se dá através de mucosas ou pele amolecida. A doença pode se apresentar de diversas formas, dependendo do sorovar envolvido. Na forma aguda, ocorre septicemia com evidência de endotoxemia, hemorragias, hepatite, nefrite e meningite. Na forma subaguda pode ocorrer nefrite, hepatite, agalaxia e meningite. Na forma crônica observa-se aborto, natimortos e infertilidade (Radostits et al., 2007).

Quadros agudos de leptospirose acometem bezerros acima de 1 mês de idade, com manifestação de septicemia, febre elevada (40,5 a 41,5 °C), anorexia, hemorragias petequiais de mucosas, depressão, hemólise resultando em hemoglobinúria, icterícia e anemia. Devido à anemia, taquicardia e dispneia são observados. A evolução até a morte é de 5 a 12 horas, podendo chegar a 24 horas. Em animais adultos ocorrem aborto por reação sistêmica à infecção, queda acentuada da produção de leite e mastite por lesão vascular, laminite aguda e dermatite necrótica por fotossensibilização. Quadros subagudos diferem apenas na intensidade dos sinais clínicos. A forma crônica está restrita a quadros de aborto no terceiro trimestre de gestação, retenção de placenta, natimortos e infertilidade (Bolin e Alt, 1999; Riet-Correa et al., 2001; Radostits et al., 2007). Existem alguns relatos de meningite apresentando incoordenação, salivação excessiva, conjuntivite e rigidez muscular (Radostits et al., 2007).

À necropsia a Leptospirose aguda é caracterizada por anemia, icterícia, hemoglobinúria e hemorragias de serosa. Encontram-se também áreas ulceradas e de hemorragia no abomaso, além de edema e enfisema pulmonar (Radostits et al., 2007).

2.6.3 Pasteurelose

A pasteurelose bovina é dividida em dois grupos de acordo com os sinais clínicos apresentados e os agentes envolvidos, sendo eles a Pasteurelose Septicêmica dos Bovinos e a Pasteurelose Pneumônica dos Bovinos ou Febre dos Transportes. A pasteurelose septicêmica é causada pela *Pasteurella multocida* tipo 1 e caracteriza-se principalmente por septicemia hiperaguda e altas taxas de letalidade. Já a febre dos transportes é causada pela *Mannheimia haemolytica* biótipo A sorotipo 1 e pela *Pasteurella multocida* biótipo A, caracterizando-se por ocasionar pneumonia lobar fibrinosa fulminante (*M. haemolytica*) e broncopneumonia fibrinopurulenta (*P. multocida*) (Radostits et al., 2007).

Na pasteurelose septicêmica a principal via de entrada da *P. multocida* no organismo se dá pelas tonsilas, resultando em um quadro de septicemia. Os efeitos da sepse são mais severos no sistema respiratório, coração e trato gastrointestinal. É caracterizada pelo súbito aparecimento de febre alta (41 – 42°C), intensa salivação, hemorragias petequiais na submucosa, depressão acentuada e morte dentro de 24 horas. Observa-se também aumentos de volume dolorosos nas regiões da garganta, barbela, peito e períneo associado a dispneia severa. Os achados macroscópicos se limitam a hemorragias petequiais generalizadas, principalmente sob a serosa, e edema pulmonar e de linfonodos. Os pulmões podem variar de congestão generalizada a consolidação parcial ou generalizada, associados

ou não ao espessamento dos septos interlobulares. Os linfonodos da região torácica apresentam-se aumentados e de caráter hemorrágico. Edema subcutâneo pode estar presente associado a lesões iniciais de pneumonia e gastroenterite hemorrágica (Radostits et al., 2007).

Na febre dos transportes uma série de associações de fatores como temperatura, fome, desmama, transporte e manipulação excessiva dos animais contribuem para a colonização e infecção do trato respiratório inferior pela *M. haemolytica* e *P. multocida*, que são comensais do trato respiratório superior. Além disso, a severidade do quadro pneumônico é dependente da associação dos fatores de virulência do agente com a amplitude da resposta inflamatória do organismo do hospedeiro (Radostits et al., 2007). Acomete normalmente bezerros desmamados de 6 a 8 meses de idade, bezerros em sobre ano, e vacas adultas tanto de leite e de corte. A transmissão ocorre por inalação de aerossóis provenientes de animais contaminados. A patogenia irá depender da carga bacteriana que atinge os alvéolos pulmonares, dos fatores de virulência das bactérias (fimbrias, polissacarídeo capsular, LPS e leucotocinas), da presença de anticorpos para opsonização bacteriana, da capacidade de fagocitose por macrófagos e da resposta inflamatória mediada por neutrófilos (Coutinho, 2004; Radostits et al., 2007). Clinicamente a doença é caracterizada por broncopneumonia cranioventral aguda associada a toxemia, e pleuropneumonia exudativa fibrinosa com evolução de 2 a 4 dias até à morte se não tratada precocemente. Os sinais clínicos incluem febre de 40 a 42°C, depressão, anorexia, salivação excessiva, descarga nasal bilateral mucopurulenta, respiração curta, dispneia, tosse produtiva e dolorosa. No exame pulmonar ausculta-se uma hiperfonese dos sons respiratórios na região cranioventral, associado à auscultação de crepitações, sibilos e fricção pleural (Radostits et al., 2007; Cruz, 2009). À necropsia observa-se congestão, edema e consolidação pulmonar, principalmente da porção cranioventral, com exsudato serofibrinoso interalveolar. Observa-se também uma bronquite catarral e pleurite fibrinosa associada ou não a uma pericardite fibrinosa. A lesão mais característica nos pulmões acometidos por *M. haemolytica* é a necrose de coagulação. Em quadros mais crônicos da doença, observa-se resquícios de broncopneumonia e aderências pleurais (Maxie e Robinson, 2007; Radostits et al., 2007).

2.6.4 Intoxicação por ionóforos

Os ionóforos ácido carboxílico são antibióticos utilizados como coccidiostáticos, antimicrobianos, promotores de crescimento e reguladores de pH ruminal (Chow & Russel 1990; Roder, 2011).

Os ionóforos mais utilizados em ruminantes são a monensina, salinomicina e lasalocida, todos produtos de fermentação de fungos do gênero *Streptomyces* spp. (Westley, 1977; Barragry, 1994). Tais substâncias formam complexos lipídeos-solúveis com cátions, alterando a permeabilidade da membrana celular, tanto microbiana quanto do próprio organismo animal, o que facilita o fluxo de íons para o interior das células, comprometendo o equilíbrio ácido básico, osmótico e eletrolítico celular, levando à turbidez e degeneração celular (Kawazoe, 2000).

Há relatos de intoxicação em diversas espécies de animais domésticos, sendo que nos ruminantes, tais quadros ocorrem devido à ingestão excessiva de ionóforos por erro na mistura da droga à ração e por engano no cálculo das dosagens (Rollinson et al., 1987).

Os sinais clínicos da intoxicação por ionóforos irão depender de qual ionóforo e da dose ingerida. Os sinais clínicos mais relatados envolvem os sistemas cardíaco e musculoesquelético. Podem ocorrer casos de morte súbita por insuficiência cardíaca após 7 horas da ingestão. Quando são observados sintomas, que variam de 6 a 24 horas após a ingestão de altas concentrações (Safran et al. 1993), são relatados anorexia, atonia ruminal, depressão, tremores musculares, diarreia aquosa, taquicardia, ataxia, decúbito e perda de peso. A ingestão de baixas concentrações pode resultar em manifestações clínicas de 2 ou mais semanas após o início da ingestão (Novilla et al. 1994). Em quadros crônicos são observados insuficiência cardíaca congestiva, edema de peito, estase e pulso positivo da jugular, ascite, dispneia associada à edema pulmonar e lesão de músculos respiratórios. (Novilla, 1992; Basaraba et al., 1999). Em casos de intoxicação por salinomicina e lasalocida, são observados sinais neurológicos relacionados à desmielinização e degeneração das células de Schwann (Safran et al. 1993).

As lesões macroscópicas mais comumente encontradas em ruminantes são mionecroses de músculos cardíaco e esquelético. Também são observados dilatação cardíaca, hidropericárdio, hidrotórax, congestão e edema pulmonar, fígado congesto e de aspecto de noz moscada (Novilla, 1992).

2.7 Tratamento

Características clínicas como desidratação, desequilíbrio hidroeletrólítico, bacteremia e endotoxemia são comuns em salmonelose em bezerros. Logo o tratamento é direcionado à reposição de fluidos e eletrólitos para reestabelecimento do equilíbrio hidroeletrólítico, limitação da cascata inflamatória através do uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), e o uso criterioso de antibióticos. Além disso, preconiza-se o fornecimento de boas condições ambientais para o animal acometido, como ambiente seco, limpo, fresco e suporte nutricional adequado (Mohler et al., 2009).

No surto de salmonelose, a fluidoterapia é de extrema importância como terapia de suporte ao animal e sua instituição é mais efetiva no início da doença, na qual bezerros ainda apresentam reflexo de mamada. Animais em decúbito esternal e que não apresentam mais o reflexo de mamada devem receber fluidoterapia endovenosa contendo agentes alcalinizantes, na tentativa de corrigir o desequilíbrio hidroeletrólítico e ácido-base (Mohler et al., 2009).

O uso de antimicrobianos para o tratamento de Salmonelose é controverso. A eficiência do tratamento é diretamente ligada ao período de início do mesmo. Assim como a fluidoterapia, antibioticoterapia de amplo espectro deverá ser instituída no início da doença onde ainda houve pouco comprometimento dos órgãos internos e sistemas do organismo

animal. Porém, algumas vezes a septicemia é fulminante e a antibioticoterapia não é suficiente para evitar o colapso e morte do animal (Radostits et al., 2007). Além disso, alguns autores acreditam que a antibioticoterapia pode induzir o aparecimento de portadores e, dependendo do uso não criterioso e em massa de antibióticos, induzir o surgimento de cepas multirresistentes aos antimicrobianos. Entretanto, a instituição de uma antibioticoterapia agressiva no início do curso clínico da doença é extremamente recomendada, ainda mais se essa for baseada em testes de sensibilidade de isolados de *S. Dublin* provenientes do surto (Radostits et al., 2007; Mohler et al., 2009).

Atualmente não há antimicrobianos específicos para o tratamento de Salmonelose em ruminantes, sendo o tratamento totalmente empírico. O uso de Sulfadoxina ou Sulfadiazina e Trimetoprim diariamente via parenteral tem sido recomendado até a recuperação dos sinais clínicos em bezerros infectados por *S. Dublin* (Radostits et al., 2007).

Silva et al. (2010b) avaliou a eficácia terapêutica do florfenicol associado ou não à fluidoterapia intravenosa no tratamento de bezerros infectados experimentalmente com *S. Dublin*. O tratamento apenas com o antibiótico foi capaz de reduzir a eliminação fecal da *S. Dublin* e aumentar a recuperação clínica dos animais. Já a antibioticoterapia associada à fluidoterapia intravenosa promoveu além da recuperação clínica, um rápido e mais eficiente controle do desequilíbrio hidroeletrólítico e evitou a ocorrência de mortes.

Os anti-inflamatórios não esteroidal (AINEs) são utilizados para reduzir os efeitos endotoxêmicos no tratamento de bezerros com Salmonelose. Porém sua eficácia terapêutica não foi documentada no tratamento da Salmonelose. Os AINEs inibem o processo inflamatório induzido por endotoxinas através do bloqueio da quebra do ácido araquidônico, reduzindo a formação de tromboxanos e prostaglandinas, ambos potentes mediadores da inflamação. Porém alguns cuidados devem ser tomados no uso de tal medicação. Os AINEs apresentam efeito hipotensivo e reduzem a perfusão renal. Logo em animais desidratados o efeito tóxico dos AINEs pode aumentar (Rang et al., 2001; MacKay, 2002).

2.8 Controle

A abordagem no controle de doenças infecciosas como a Salmonelose, leva em consideração segundo Radostits et al., 2007 citado por Mohler et al., 2009, a remoção das fontes de infecção do ambiente animal, remoção do animal do ambiente contaminado, elevação da resposta imune específica e não específica do hospedeiro, e redução do estresse. Esses fatores associados às condições ambientais irão interferir de forma direta nas principais variáveis que determinam a ocorrência de salmonelose no rebanho, sendo elas a imunidade do hospedeiro, o desafio e a virulência da *S. Dublin* (Mohler et al., 2009).

A introdução da *Salmonella* sp. no rebanho se dá por meio de alimentos e água contaminados, animais portadores adquiridos de propriedades que possuem a doença, fertilizantes, equipamentos e utensílios contaminados, além do próprio ser humano. Dessa forma, o uso de boas práticas de gerenciamento alimentar e de criação que evitam comprometer a imunidade do rebanho são fatores que minimizam a introdução e as consequências da

Salmonelose (Radostits et al., 2007; Mohler et al., 2009). Cuidados durante o parto e uma boa colostragem, com fornecimento de colostro de boa qualidade e ausente de *S. Dublin* ajudam no estabelecimento de uma boa resposta imune e redução do desafio ao qual o bezerro é exposto. A utilização de mamadeiras, bebedouros e cochos limpos durante o fornecimento alimentar associados a uma boa nutrição e condições ambientais adequadas de abrigo e higiene favorecem a manutenção e desenvolvimento da imunidade além de minimizar o estresse, responsável pela imunossupressão e eliminação de *S. Dublin* por portadores latentes. (Mohler et al., 2009).

A maioria das vacinas comerciais contra *Salmonella* são sintetizadas a partir de bacterinas (bactéria morta) e apresentam uma série de limitações quanto à indução de imunidade. As bacterinas não expressam antígenos como a *Salmonella* sp. in vivo além de não induzir imunidade celular e de mucosa. A exposição neonatal normalmente ocorre nos primeiros dias de vida, limitando a estimulação de mecanismos de imunidade adquirida pela vacinação. Além disso, a imunidade passiva adquirida via colostro de vacas vacinadas com bacterina é limitada (House et al., 2001).

3. RELATO DE CASO

3.1 Material e métodos

Durante o mês de dezembro de 2013 foi acompanhado um surto de mortalidade de bezerrões, com idade entre 60 e 90 dias, em uma propriedade de exploração leiteira situada no município de Inhaúma, Minas Gerais, Brasil. Nesse mês, foi registrado um índice pluviométrico de 280 mm no município, considerado o segundo mês mais chuvoso do ano (Climate-Data.org, 2014).

A propriedade é composta por animais da raça Holandês Preto e Branca, sendo 1.400 vacas em lactação, com produção diária de 35.000 litros de leite e cerca de 250 bezerras na fase de aleitamento.

Aos 21 dias pré-parto as vacas secas eram agrupadas em piquete maternidade. O parto era monitorado por funcionários treinados, que o auxiliavam quando o mesmo apresentava algum grau de distocia. Após o nascimento, realizava-se a colostragem artificial dos neonatos em até 3 horas após nascimento e o procedimento era repetido com 12 horas após o parto. O volume de colostro utilizado por fornecimento correspondia a 10% do peso vivo do neonato. O mesmo era proveniente de banco de colostro obtido de vacas da própria fazenda e possuía concentração de imunoglobulinas superior a 50 mg por ml de colostro (mensuração via colostrômetro). Também era realizada a cura de umbigo com tintura de iodo a 10%, duas vezes ao dia, durante quatro dias até observar completa cicatrização umbilical. Os animais eram identificados por meio de brincos em ambas as orelhas. Durante o primeiro dia pós-parto, os recém-nascidos permaneciam no piquete maternidade junto à mãe e a partir do segundo dia de vida, as bezerras eram transferidas para o bezerreiro constituído pelo sistema de casinhas individuais sobre piso de areia, onde recebiam por dia, 6 litros de leite de descarte associado à sucedâneo, em duas refeições,

ração, feno e água *ad libitum*. As condições de higiene do bezerreiro não eram boas, contendo acúmulo de fezes, umidade excessiva, camas de areia sujas e molhadas, acúmulo de barro, dentre outros. Ao completarem 90 dias de idade, as bezerras eram reagrupadas em piquetes coletivos contendo 10 animais por piquete.

Durante a fase de aleitamento em casinhas, o bezerreiro possuía 250 bezerras da raça Holandês Preto e Brancas e destas, 8 adoeceram. Os animais doentes, identificados como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, possuíam idade variando entre 60 e 90 dias, sendo que 4 deles evoluíram a óbito (animais 1, 2, 3 e 4) cerca de 3 dias após o início dos sintomas.

O exame físico dos oito animais acometidos foi realizado de acordo com Dirksen (1993). Foram avaliados também os seguintes parâmetros: volume globular (VG) através da técnica de microhematócrito descrita por Schalm et al. (1975), riquetsemia de *Anaplasma marginale* e parasitemia de *Babesia* sp. por meio de esfregaços sanguíneos conforme IICA, 1987.

Amostras de sangue com anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético tripotássico (K₃EDTA) foram coletadas dos animais 3 e 4 quando os mesmos começaram a apresentar os sinais clínicos. A coleta ocorreu por meio de punção da veia jugular com prévia desinfecção com álcool 70%. O animal 3 foi encaminhado ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) e realizadas coletas de sangue por três dias consecutivos durante o período de evolução dos sinais clínicos. O Animal 4 apresentou apenas uma coleta de sangue no primeiro dia de manifestação clínica, pois o mesmo permaneceu na propriedade e apenas uma amostra foi enviada ao HV-UFMG para realização de exames.

Em tais amostras foi realizado hemograma por meio de avaliação eletrônica no aparelho de análises hematológicas Abacus Junior Vet^{®1}. A contagem diferencial de leucócitos, caracterização morfológica de hemácias e plaquetas foram realizadas através de esfregaços sanguíneos após coloração com corante Romanowsky (Panótico Rápido²) e avaliados no microscópio em aumento de 1000x. A mensuração da proteína plasmática total e fibrinogênio plasmáticos foi realizada por meio de refratometria segundo Jain (1993).

Também foram coletadas 2 amostras de sangue sem anticoagulante do animal 3, correspondente aos dois primeiros dias de manifestação clínica, para realização dos seguintes testes bioquímicos: alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), glicose, proteínas totais, albumina, uréia e creatinina. As análises bioquímicas foram realizadas por meio de avaliação eletrônica usando o aparelho automático Cobas Mira^{®3} e kits Bioclin^{®4} específicos.

¹ Abacus Junior Vet[®], Diatron Group, Hungria.

² Panótico Rápido, Laborclin, Brasil.

³ Cobas Mira[®], F. Hoffmann-La Roche Ltda., Suíça.

⁴ Bioclin[®], Bioclin/Quibasa, Brasil.

Necropsias dos animais 1, 2, 3 e 4 foram realizadas e as lesões macroscópicas identificadas e caracterizadas. Fragmentos de pulmão, baço, fígado, rins, abomaso, intestino e linfonodos mesentéricos foram coletados em duas alíquotas, sendo uma fixada em solução de formaldeído 10% para exame histopatológico e a outra alíquota encaminhada refrigerada para exame bacteriológico.

Para a pesquisa de hemoparasitas (*Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*) foram coletadas amostras de sangue da ponta da cauda e confeccionados esfregaços sanguíneos. As lâminas foram coradas com corante Romanowsky (panótico rápido), secas e analisadas em microscópio óptico com aumento de 1000x.

Para a pesquisa de *Leptospira* sp., fragmentos de pulmão e rim foram macerados com gral e pistilo em salina tamponada e imediatamente diluídos na proporção de 1:10 em solução salina tamponada. Da solução diluída, 0,5 mL foi inoculado em 5 mL de meio EMJH modificado (Alves et al. 1996) e incubados em estufa a 28°C. As leituras para a observação de crescimento das Leptospiras foram feitas em microscopia de campo escuro durante 28 dias (Tuner, 1970). O diagnóstico sorológico da Leptospirose foi realizado com a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), de acordo com Galton et al. (1965) e Cole et al. (1973), utilizando uma coleção de antígenos vivos representada pelos sorovares de referência (*L. Castellonis*, *L. Javanica*, *L. Tarassovi*, *L. Whitcombi*, *L. Australis*, *L. Autumnalis*, *L. Bataviae*, *L. Bratislava*, *L. Canicola*, *L. Copenhageni*, *L. Gripotyphosa*, *L. Hardjo* (Hardjoprajitno), *L. Hebdomadis*, *L. Pomona*, *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Sentot*, *L. Wolffii*, *L. Pyrogenes*, *L. Butembo*, *L. Cynopteri*, *L. Panama*, *L. Shermani* e *L. Patoc*).

Para o isolamento das enterobactérias (*Escherichia coli* e *Salmonella* sp.), um grama de vísceras (pulmão, fígado, bile e linfonodos mesentéricos) foi transferido para meio não seletivo de pré-enriquecimento (água peptonada) e incubado a 37°C por 18-24 horas. Em seguida foram repicadas em ágar MacConkey e em Tetracionato de Sódio e incubadas à 37°C por 24h. A partir do caldo seletivo verde brilhante, as culturas foram semeadas em placas de ágar XLT-4 e ágar Hektoen (Waltman, 2000).

As colônias que apresentavam características morfológicas sugestivas de *E. coli* ou *Salmonella* sp. foram submetidas a provas bioquímicas de acordo com Quinn et al. (1994). As colônias classificadas como *Salmonella* sp. nos testes bioquímicos foram testadas para sensibilidade antimicrobiana in vitro. Utilizou-se a técnica de disco-difusão em placas contendo ágar Mueller Hinton (CLSI, 2005) e submetidas a PCR segundo Amavisit et al (2001) para confirmação do gênero. A caracterização do sorovar foi realizada pelo Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ - Rio de Janeiro/RJ) pelo método de soroaglutinação rápida baseada nas fórmulas antigênicas para *Salmonella* sp. (Tenover et al., 1997; Grimont e Weill, 2007; Mohler et al., 2009).

Os fatores de virulência de *Escherichia coli* (K99, F41, intimina, Stx1, Stx2 e STa) foram pesquisados por meio de PCR multiplex (Franck et al., 1998).

Após o estabelecimento do diagnóstico etiológico, mais quatro bezerras foram acometidas, sendo estas, então, tratadas com florfenicol por via intramuscular, na dose de 20 mg/Kg de peso vivo, repetindo-se a aplicação 48 horas após a primeira. Administrou-se também flunixin meglumina por via intramuscular, na dose de 2,2 mg/Kg de peso vivo a cada 24 horas, por cinco dias consecutivos. Após o estabelecimento do tratamento, todos os animais acometidos se recuperaram das manifestações clínicas apresentadas.

Para prevenir a ocorrência de outros casos da doença no bezerreiro e controlar o surto, foi realizado uma metafilaxia com a administração via oral através do leite de florfenicol na concentração de 10 mg/Kg de peso vivo durante 15 dias consecutivos em todos os animais do bezerreiro. A partir desse tratamento, não foram mais observados casos clínicos no rebanho.

Os animais acometidos faziam parte de um projeto de pesquisa sobre hemoparasitas como *Anaplasma marginale*, *Babesia sp.* Dessa forma, qualquer animal que adoecesse com os sintomas similares aos de tristeza parasitária bovina era submetido à avaliação hematológica por meio de esfregaços sanguíneos de ponta de cauda. Caso fosse identificado a presença de *Babesia sp.*, os animais eram tratados com diacetato de diminazene. Porém, se fosse identificado *Anaplasma marginale*, os animais não poderiam ser tratados com enrofloxacin ou oxitetraciclina, pois assim iria comprometer os resultados do projeto de pesquisa. Os animais apenas eram tratados com tais drogas caso os valores de hematócrito atingissem valores inferiores a 18%. Os animais doentes não foram tratados com tais drogas, pois na técnica de esfregaço sanguíneo não foram observados os hemoparasitas citados anteriormente e o valor do hematócrito não atingiu valores inferiores a 18%. Assim a base disponível para uso na propriedade e selecionada para tratamento, mesmo antes do resultado do exame de sensibilidade *in vitro*, foi florfenicol. Tal escolha foi baseada em sua eficácia no tratamento de animais experimentalmente infectados por *S. Dublin*, relatada em estudo realizado por Silva et al. (2010b).

Após um mês da ocorrência dos casos clínicos, amostras de água, ração, sucedâneo e camas de animais contendo areia limpa e areia suja com fezes, foram coletadas para realização de cultura bacteriológica com o objetivo de pesquisar possíveis fontes de infecção e existência de animais portadores para *S. Dublin*.

3.2 Resultados

3.2.1 Exame físico

O quadro clínico de todos os oito animais acometidos caracterizava-se inicialmente por uma alteração do sistema respiratório. O quadro observado nos oito animais foi similar, diferindo apenas em suas severidades. Antes do estabelecimento do diagnóstico etiológico, os animais 1, 2, 3 e 4 adoeceram e morreram, resultando em 100% de letalidade até o diagnóstico definitivo. A evolução desde o momento que adoeceram até a morte foi de três dias para os quatro animais.

No primeiro dia da doença, os sinais clínicos observados foram apatia, diminuição do consumo da dieta sólida, porém com manutenção da ingestão de leite. Temperatura retal variando entre 41 e 42 °C, mucosas oculares e vaginal amareladas e retração do globo ocular.

No segundo dia, os sinais clínicos caracterizavam-se por apatia intensa, anorexia, assim como ausência de movimentos ruminais. Na região sublingual e mucosa vaginal observou-se presença abundante de hemorragias petequiais, vasos episclerais ingurgitados e taquicardia (100 a 120 batimentos cardíacos por minuto). Ainda foi observada taquipnéia (90 a 110 movimentos respiratórios por minuto) com movimentos respiratórios caracterizados por baixa amplitude e respiração predominantemente abdominal.

No terceiro dia de evolução clínica além dos sinais descritos anteriormente, foi observado abdução dos membros torácicos, respiração ofegante e protrusão da língua, acompanhado de congestão das mucosas. Logo depois os animais vieram a óbito, sendo realizada a necropsia imediatamente após a morte.

3.2.2 Patologia clínica

O Animal 3 apresentou ao longo do período patente uma moderada hipoproteïnemia associada ao aumento do fibrinogênio plasmático. O aumento do volume globular, da contagem global de hemácias e da concentração de hemoglobina são sugestivos de hemoconcentração (Meyer e Harvey, 1998; Santos et al., 2002). Além disso, o animal apresentou uma leucocitose devido à monocitose associada a uma neutropenia, com aumento progressivo de precursores da linhagem mielóide (Anexo 1). O Animal 4 apresentou anemia leve, discreto aumento do fibrinogênio plasmático, discreta monocitose e presença de moderada quantidade de precursores da linhagem mielóide (Anexo 1). Na avaliação bioquímica do soro do Animal 3, os valores de ALT, AST e GGT mostraram-se ligeiramente elevados e os de proteína total sérica moderadamente reduzidos, assim como os de albumina, globulinas e glicose (Anexo 2).

3.2.3 Alterações macroscópicas

Em três bezerras das quatro necropsiadas, foram observados durante à ectoscopia congestão de mucosas oral, ocular e retal, assim como também hemorragias petequiais na mucosa vaginal. Ao se rebater a pele foram observadas áreas de edema de subcutâneo e na musculatura do dorso haviam hemorragias do tipo equimose.

Ao acessar a cavidade abdominal, foram observados omento de coloração amarela, assim como abundante quantidade de líquido peritoneal amarelado que coagulou à abertura da cavidade, ocupando grande parte da mesma. Em um dos animais afetados, tal líquido encontrava-se envolvendo a periferia do duodeno. Nas serosas do rúmen, retículo, omaso, intestino delgado, além da mucosa da bexiga foram observadas hemorragias petequiais difusas (Figura 1). Os linfonodos mesentéricos estavam aumentados de volume, alonga-

dos, coloração avermelhada e ao corte apresentavam-se hemorrágicos. Os vasos mesen-téricos apresentavam-se moderadamente congestos. O fígado mostrou-se aumentado de volume, com bordos rombos e de coloração amarelo alaranjada. A vesícula biliar apre-sentou parede discretamente espessada e edemaciada, com conteúdo amarelado e discre-tamente mais viscoso (Figura 1).

Na abertura da cavidade torácica, foi encontrado abundante quantidade de líquido ama-relo, ocupando aproximadamente metade da cavidade e que coagulou à abertura da mesma. Hemorragias petequiais também foram observadas na região de pleura parietal e epicárdio. Adicionalmente, os pulmões encontravam-se moderadamente congestos, com hepatização vermelha em quase toda sua totalidade, além de enfisema intersticial na por-ção final dos lóbulos caudais (Figura 1). Ao estudo da cavidade craniana foi observado congestão moderada de cérebro e vasos da leptomeninge.

A necropsia do Animal 3 apresentou alterações macroscópicas similares às encontradas nos outros três animais. Porém na abertura da cavidade abdominal foi observado a pre-sença de fibrina difusamente distribuída, recobrando todas as vísceras abdominais. Exter-namente ao saco omental foi observado uma área de hemorragia difusa com diâmetro aproximado de 10 cm. Ao corte dessa área, fluiu grande quantidade de conteúdo lique-feito, esverdeado e fétido, proveniente do lúmen do abomaso, que apresentava uma área ulcerada de aproximadamente 6 cm de diâmetro, bem delimitada e com bordos elevados e rombos. A serosa e mucosa do abomaso apresentava pequenas áreas necróticas multi-focais e presença de fibrina.

3.2.4 Alterações microscópicas

Ao exame histopatológico do pulmão dos quatro animais necropsiados foram observados infiltrado inflamatório neutrofílico, presença de edema acentuado, fibrina e hemorragia multifocal moderada no lúmen alveolar e bronquiolar. Nos septos alveolares observou-se infiltrado inflamatório multifocal a coalescente, com predomínio de linfócitos, também associado à macrófagos e neutrófilos. Também foi observado vasculite linfocitária mul-tifocal intensa com trombose em capilares (Figuras 2 e 3). Este quadro é compatível com pneumonia bronco-intersticial neutrofílica e linfo-histiocitária associado à trombose e vasculite linfocitária.

No fígado, vesícula biliar, baço, hipófise foram observadas alterações como vasculite, necrose e trombose (Figuras 4 e 5).

Em um dos animais foi evidenciado no intestino grosso, perda da continuidade da mucosa e exposição da submucosa. Associado a isso foi observado infiltrado inflamatório neutro-fílico, fibrina e trombose multifocal a coalescente intensa (Figura 6), compatível com uma colite fibrinonecrótica e neutrofílica profunda associada a trombose.



Figura 1 - Alterações macroscópicas encontradas durante as necropsias de quatro bezerras acometidas com salmonelose septicêmica por *Salmonella* Dublin. A) Hemorragias petequiais difusas na serosa do intestino delgado. B) Hemorragias petequiais difusas na mucosa da bexiga. C) Fígado com bordos arredondados, aumentado de volume e de coloração amarelo-alaranjado. D) Vesícula biliar com espessamento discreto de parede devido ao edema intramural e conteúdo amarelado, discretamente viscoso. E) Líquido amarelo de aspecto gelatinoso ocupando metade da cavidade torácica; áreas de hemorragia petequial e equimose na pleura parietal e diafragma; pulmão direito aumentado de volume, de superfície brilhante, avermelhado em quase toda sua totalidade e áreas de enfisema na porção final do lobo caudal direito. F) Cavidade abdominal do quarto animal necropsiado mostrando fibrina recobrendo toda a superfície do fígado e peritônio, além de pontos de aderências entre ambos.

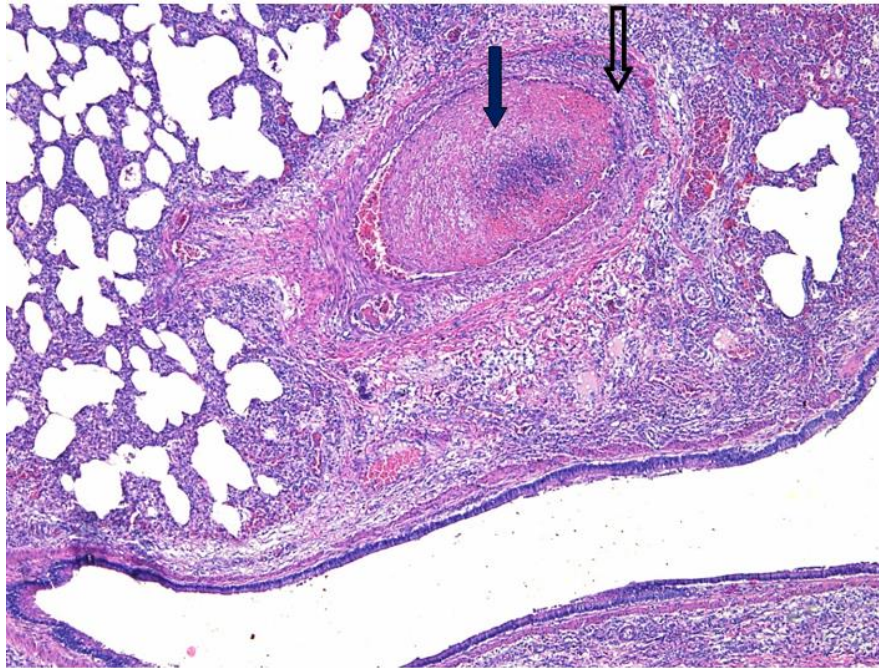


Figura 2 – Corte histológico de pulmão de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por *Salmonella* Dublin: trombose (seta) e vasculite (cabeça de seta) multifocal. HE 50x.

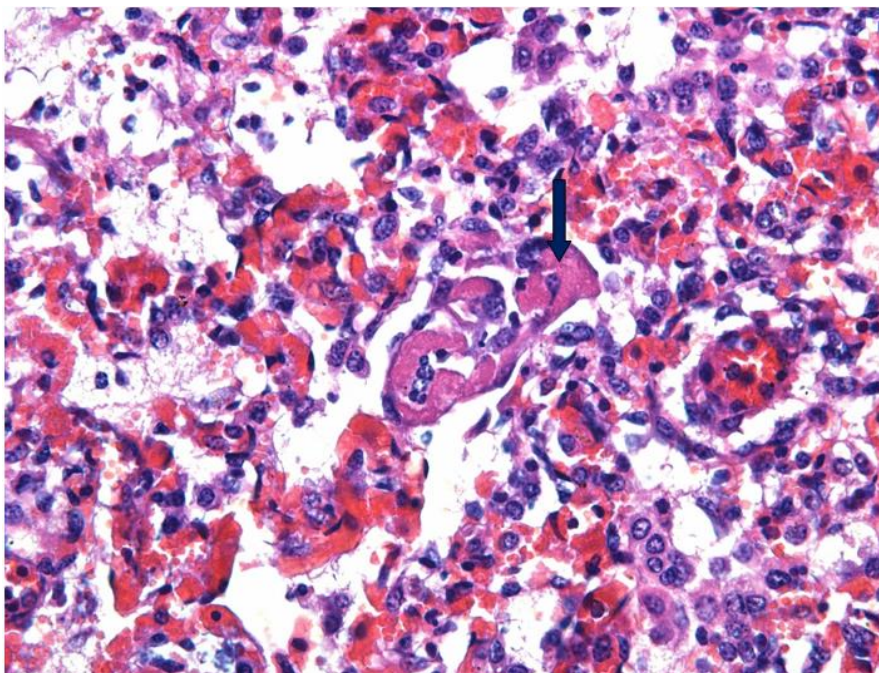


Figura 3 – Corte histológico de pulmão de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por *Salmonella* Dublin: trombose de capilar (seta) multifocal. HE 400x.

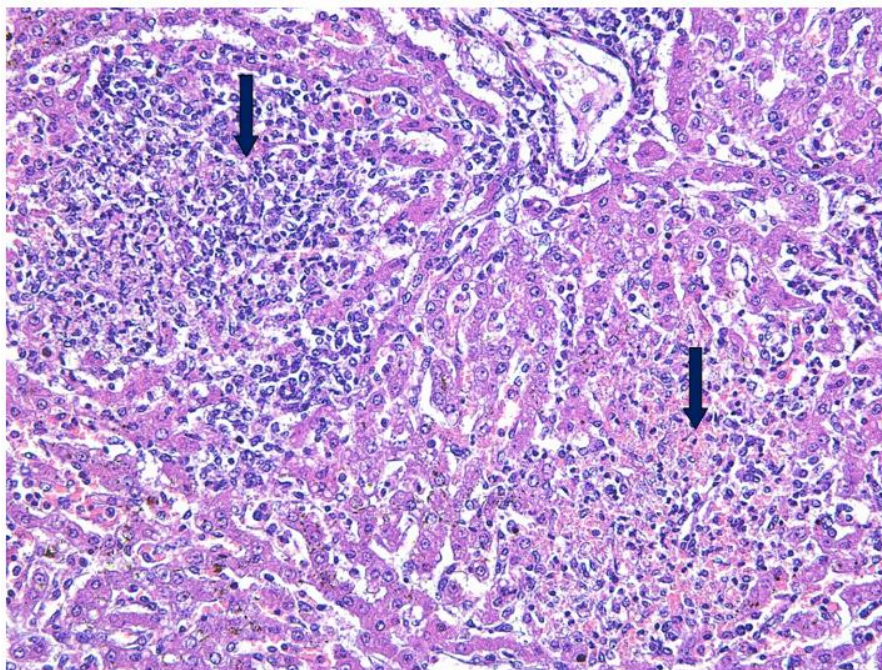


Figura 4 – Corte histológico de fígado de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por *Salmonella* Dublin: necrose e infiltrado inflamatório linfo-histiocitário multifocal (setas). HE 200x.

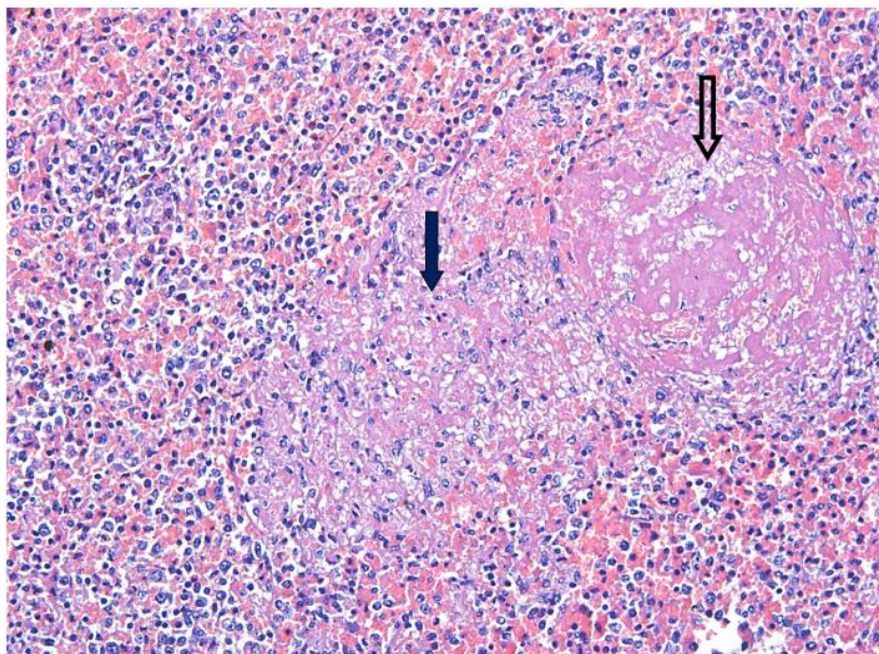


Figura 5 – Corte histológico de baço de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por *Salmonella* Dublin: necrose (seta) associado à trombose (seta sem preenchimento) multifocal. HE 200x.

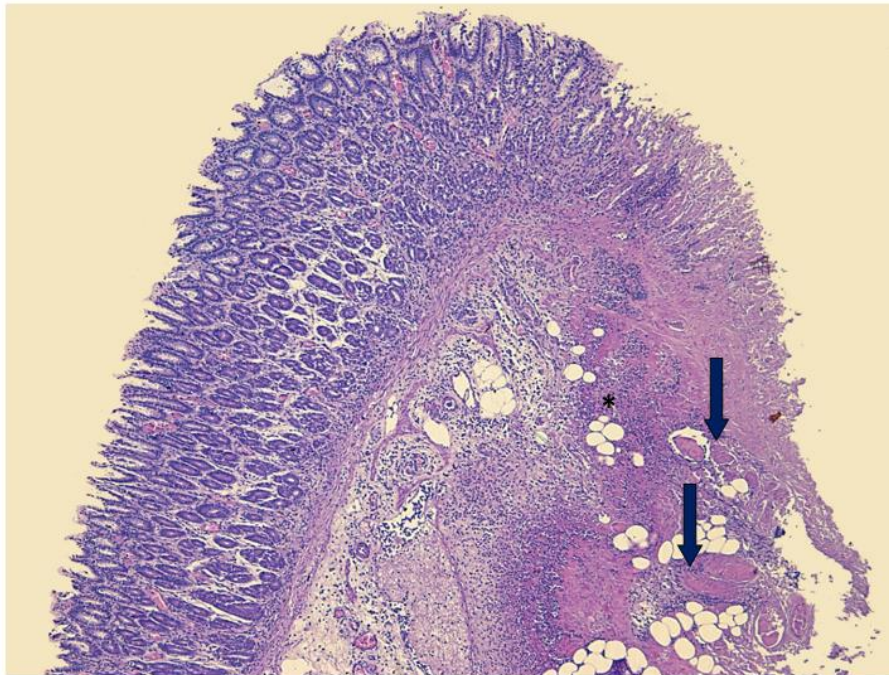


Figura 6 – Corte histológico de intestino grosso de bezerra acometida com salmonelose septicêmica por *Salmonella* Dublin: interseção entre mucosa íntegra e fibrinonecrótica associado à trombose multifocal (seta) e infiltrado inflamatório na lâmina própria/submucosa (*). HE 50x.

3.2.5 Diagnóstico etiológico

Em relação à pesquisa de hemoparasitas, todos os esfregaços sanguíneos obtidos dos animais que adoeceram, foram negativos para *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*.

No teste de soroaglutinação microscópica realizado nos soros em estudo, não foram detectados anticorpos específicos para nenhum sorovar de *Leptospira* spp. Também não houve crescimento de espécies de *Leptospira* sp. em nenhuma das amostras observadas em microscopia de campo escuro.

Em apenas uma amostra de conteúdo abdominal, proveniente do animal que apresentava úlcera de abomaso, foi possível isolar e identificar *Escherichia coli*, sendo que essa não apresentou nenhum dos fatores de virulência pesquisados, sendo classificado como não patogênica.

Nas amostras de tecidos procedentes das quatro bezerras necropsiadas, foi possível isolar colônias características de *Salmonella* sp. em fragmentos de pulmão, fígado, conteúdo de vesícula biliar e linfonodos mesentéricos (Anexo 3), o que foi confirmado através das provas bioquímicas realizadas. Estas amostras foram positivas quando realizada a PCR específica para o gênero *Salmonella* sp. Na tipificação realizada na IOC/FIOCRUZ (Rio

de Janeiro/RJ) foi identificado o sorovar *Salmonella* Dublin nos tecidos e conteúdos citados anteriormente, em todos os animais acometidos pela infecção durante o surto.

Os resultados dos testes de sensibilidade antimicrobiana in vitro das colônias isoladas de *Salmonella* sp. mostraram resistência à penicilina e pouca sensibilidade às bases enrofloxacina e estreptomicina (Anexo 4).

As amostras de água, ração, sucedâneo e areias de camas apresentaram resultados negativos na cultura bacteriológica para a pesquisa de *S. Dublin*.

3.3 Discussão

As alterações clínicas, macroscópicas e microscópicas evidenciadas nos bezerros lactentes, com idade entre 60 e 90 dias, acometidos no presente relato, assim como também a identificação do agente infeccioso por meio de métodos microbiológicos e de biologia molecular nas amostras coletadas, indicam um quadro de salmonelose na forma septicêmica, devido à infecção e multiplicação de *Salmonella* Dublin na circulação sanguínea e em diferentes tecidos.

A salmonelose causada por *Salmonella* Dublin em bovinos pode acometer as mais diversas categorias animais em um rebanho, causando três tipos de infecção: sistêmica, enterite associada a sepse em animais jovens ou aborto associado a sepse em animais adultos; e quadros de enterite sem ocorrência de sepse (Barrow et al., 2010). A categoria animal mais suscetível à infecção e desenvolvimento da Salmonelose septicêmica é a de bezerros com aproximadamente 2 meses de idade (Mastroeni e Maskell, 2006; Radostits et al., 2007).

Algumas alterações clínicas evidenciadas nos animais acometidos no presente relato como febre, apatia, inapetência e icterícia, coincidem com os relatados em um surto de mortalidade por *Salmonella* Dublin em bezerros, com curso de mortalidade de 24 horas após a observação dos sinais clínicos (Marques et al., 2013). Em adição aos sinais clínicos mencionados anteriormente, alguns autores descrevem: diarreia, desidratação, pneumonia, septicemia causando meningite, aborto, artrite séptica e gangrena seca de extremidades (Gelberg, 2006; Mohler e House, 2009).

Pelos sinais clínicos e evolução dos sintomas, desde o início da doença até a morte com três dias após início dos sinais, é possível concluir que os animais acometidos apresentaram salmonelose septicêmica, mas não é possível definir com certeza a forma apresentada, se hiperaguda ou aguda, de acordo com Nielsen (2013). Nos animais do presente relato foram observados todos os sinais clínicos compatíveis com a forma aguda da doença (febre, apatia, pneumonia, dispneia, taquicardia, hemorragias petequiais nas mucosas, dentre outros), apenas com ausência de diarreia. Porém o período de evolução da doença foi similar ao descrito na forma hiperaguda.

A severidade dos sinais clínicos e da evolução da salmonelose em bovinos por *Salmonella* Dublin é dependente de vários fatores como: dose infectante, via de infecção, resistência do hospedeiro e estirpe, sendo essa última na maioria das vezes agressiva, ocasionando quadros clínicos severos nos animais acometidos (Mohler et al, 2009; Nielsen, 2013). Como foi evidenciado no presente relato, pode se inferir que a dose infectante de desafio natural, nestes animais foi muito alta, já que os neonatos permaneciam um dia pós-parto na maternidade, o elevado índice pluviométrico registrado no período aliado às condições inadequadas de higiene do bezerreiro no momento do surto e a ingestão de leite de descarte, que constitui outra provável fonte de *S. Dublin*, permitiam a presença e manutenção do microrganismo no meio ambiente.

A hemoconcentração sanguínea observada nos hemogramas seriados do animal 3, é consequência do progressivo estado de desidratação do animal, já que a concentração de hemácias, hemoglobina e o volume globular apresentaram um aumento ao longo dos exames, sem alterações significativas no VCM e HCM (Meyer e Harvey, 1998; Santos et al., 2002). Assim como Santos et al. (2002) descreveu em seu estudo, o valor de proteína total não acompanhou o aumento do volume globular e da concentração de hemácias, como seria esperado nos casos de desidratação.

Apesar do aumento progressivo do fibrinogênio, a proteína total apresentou redução moderada, associada a redução dos valores de albumina e globulinas. O fibrinogênio nos bovinos é uma proteína inflamatória de fase aguda positiva enquanto a albumina é uma proteína inflamatória de fase aguda negativa, ou seja, o fibrinogênio aumenta em processos inflamatórios agudos enquanto a albumina tende a diminuir (Godson et al., 1995; Meyer e Harvey, 1998), o que é observado nos hemogramas dos animais acometidos neste relato. As globulinas tendem a aumentar à medida que o processo inflamatório se torna crônico, o que não se observa na série de exames, uma vez que o curso é agudo.

As justificativas para tais achados são: (I) perdas de proteínas entéricas devido à enterite fibrinonecrótica (Santos et al., 2002), (II) a ineficiência do fígado em produzir albumina, uma vez que o mesmo encontra-se colonizado por *S. Dublin*, em processo inflamatório e de necrose de hepatócitos, além de orientar sua produção para outras proteínas inflamatórias como a ceruloplasmina, haptoglobina e glicoproteína ácida, cujo tempo necessário para que sejam observados aumentos em seus valores são de curto a longo prazo, variando de 24 a 168 horas após a infecção (Silva et al., 2011), e (III) a evolução aguda do processo, resultando em moderada elevação do fibrinogênio e globulinas hepáticas e impedindo que as células responsáveis pela resposta humoral produzam em tempo hábil, uma concentração de imunoglobulinas capaz de ser detectada no exame bioquímico.

Na avaliação seriada dos leucogramas constatou-se uma leucocitose associada a monocitose, neutropenia e eliminação pela medula óssea de células precursoras da linhagem mielóide, achados estes diferentes dos relatados por Marques et al. (2013). Essas alterações se devem à tentativa do organismo em debelar a infecção por *S. Dublin*, estimulando a produção e liberação de precursores dos monócitos e granulócitos. A neutropenia se deve à intensa mobilização dos neutrófilos sanguíneos para os diversos sítios de infecção por

S. Dublin no organismo, dentre eles fígado, baço, pulmão e intestino, resultando em infiltrados inflamatórios neutrofílicos. Em análise comparada entre os hemogramas dos animais é possível inferir que o animal 4 apresenta um quadro clínico mais severo que o animal 3, uma vez que seu hemograma foi realizado no primeiro dia da afecção, e seus valores são equiparáveis ao segundo dia da afecção no animal 3. Com isso, o acompanhamento clínico dos animais acometidos pela salmonelose se torna extremamente importante, pois são observadas alterações clínicas, hematológicas e bioquímicas à medida que o quadro clínico do animal evolui.

A discreta elevação das enzimas AST e GGT, associados à redução da albumina e globulinas descritas anteriormente para o animal 3, refletem alterações hepáticas, provavelmente decorridas dos processos de necrose de hepatócitos e destruição de ductos biliares.

A hipoglicemia apresentada pelo animal 3 pode ser justificada segundo Santos et al. (2002) e Silva et al. (2010a), como consequência da redução progressiva da ingestão de alimento, da própria multiplicação bacteriana que ocorre na sepse com consumo de glicose e pela incapacidade do fígado em realizar a gliconeogênese e reestabelecer os níveis plasmáticos de glicose já que o mesmo encontrasse em processo inflamatório e de necrose decorrentes da colonização por *S. Dublin*.

As alterações macroscópicas observadas em infecções por *Salmonella Dublin* são diversas, destacando-se congestão pulmonar, hemorragias petequiais na submucosa e subserosa de diversos órgãos, enterite e ileotiflocolite fibrinonecrótica, catarral, hemorrágica difusa, inflamação da vesícula biliar, linfonodos mesentéricos edematosos, além de erosões na mucosa abomasal (Wray e Davies, 2000; Gelberg, 2006; Thomson et al., 2001). A maioria destas alterações foram observadas na totalidade dos bezerros necropsiados, sendo de maior relevância as hemorragias petequiais, edema severo, congestão pulmonar e linfonodos mesentéricos edematosos.

As alterações microscópicas mais frequentes (vasculite, trombose e necrose) encontradas nas amostras procedentes dos diferentes órgãos (fígado, rim, pulmão) foram similares nas quatro bezerras, apenas diferindo o grau da severidade. Alguns estudos tanto com inoculação experimental (Segall e Lindberg, 1991) como natural (Marques et al., 2013,) por *Salmonella Dublin* descrevem estas alterações como sugestivas da doença.

A antibioticoterapia e a metafilaxia utilizando o florfenicol como base para tratamento mostraram-se eficazes uma vez que os animais acometidos se recuperaram e não foram mais observados casos clínicos no bezerreiro. Esse resultado corrobora com o encontrado por Silva et al. (2010b) e enfatiza a importância de se realizar testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* para a escolha de medicamento eficazes para o tratamento e controle da infecção por *S. Dublin*.

As amostras de água, ração, sucedâneo e areias de camas apresentaram resultados negativos na cultura bacteriológica para a pesquisa de *S. Dublin*, mostrando que não houve o estabelecimento de animais portadores no rebanho, eliminando o agente no ambiente. O

isolamento da *S. Dublin* de tais amostras se torna difícil devido ao tipo de amostra, de como é feito a amostragem, da forma intermitente de eliminação do agente nas fezes, além da gama de outros microrganismos presentes que não apresentam crescimento fastidioso como a *Salmonella* sp. (Litchfield, 1973, June et al., 1996).

Devido aos sinais clínicos inespecíficos apresentados, à faixa etária dos animais acometidos, os achados macro e microscópicos, além do curso da doença, o diagnóstico de salmonelose septicêmica requer a atenção do veterinário para o diagnóstico diferencial de doenças como Babesiose, Leptospirose, Pasteurelose e intoxicação por ionóforos. Na maioria dessas doenças são observados animais febris, apáticos, inapetentes, desidratados, com alteração de mucosas, que podem se apresentar ictericas a hemorrágicas, anemia, dispneia e taquipnéia, sinais neurológicos, dentre outros (Novilla, 1992; Safran et al. 1993; Bolin e Alt, 1999; Bock et al., 2004; Radostits et al., 2007; Cruz, 2009). À necropsia, achados como hemorragias petequiais em mucosa e serosa dos órgãos, trombose, sangue hidrêmico, icterícia, congestão, edema e enfisemas pulmonares associados ou não à hepatização pulmonar, hidrotórax, hidroperitônio, hepato e esplenomegalia são comuns às afecções. Além disso, alterações histopatológicas de vasculite, microtrombos, necrose associados à infiltrado inflamatório neutrofílico, linfocitário e de células mononucleares também são observadas em algumas das doenças listadas para diagnóstico etiológico (Bock et al., 2004; Radostits et al., 2007; Maxie e Robinson, 2007).

Relatos de caso sobre infecções naturais com o agente, apresentando os sinais clínicos e as alterações encontradas nos bezerros doentes são importantes para entender a relação entre os mecanismos de patogenia do agente e o quadro clínico observado.

As espécies de *Salmonella* possuem na parede celular fragmentos de LPS capazes de estimular processos inflamatórios. O Lipopolissacarídeo (LPS) da membrana externa da *Salmonella* Dublin contém um lipídeo com capacidade endotoxêmica, chamado de "lipídeo" A, liberado após a morte bacteriana. Este componente da parede da bactéria estimula a liberação de citocinas tais como TNF e IL-1, o que contribui para a ocorrência de alterações vasculares, trombose e hemorragias. Também sendo muito importante na danificação de tecidos, hipertermia, coagulação intravascular disseminada (CID), colapso circulatório, caracterizado por um choque endotóxico (Maxie e Robinson, 2007).

4. CONCLUSÃO

De acordo com os sinais clínicos apresentados, com as alterações macro e microscópicas observadas, com os resultados de exames complementares de cultura, isolamento e sorotipificação do agente, conclui-se que os oito animais, com idade entre 60 e 90 dias, apresentaram um quadro de Salmonelose Septicêmica por *Salmonella* Dublin. Quatro desses evoluíram para óbito por consequência das alterações sistêmicas provocadas pelo agente e pelo não tratamento realizado antes do diagnóstico definitivo.

O diagnóstico diferencial para doenças como Babesiose, Anaplasmose, Leptospirose, Pasteurelose, Colibacilose e intoxicação por ionóforos foram de extrema importância para

o correto diagnóstico da Salmonelose Septicêmica e para a adoção da conduta terapêutica mais adequada no controle do surto. Tais doenças são extremamente comuns nessa faixa etária e seus sinais clínicos são inespecíficos e de fácil confusão entre as enfermidades, tornando o diagnóstico final mais difícil e muitas vezes equivocado.

Para o correto diagnóstico da Salmonelose Septicêmica como de qualquer outra enfermidade, além do conhecimento teórico, faz-se necessário o emprego de uma metodologia de trabalho bem definida e sistemática, evitando-se de pular qualquer etapa do exame clínico na tentativa de se obter um diagnóstico rápido, que na maioria dos casos é incorreto. A metodologia passa pela anamnese, exame físico completo, colheita de materiais ante mortem e post mortem para realização de exames complementares, definição de um diagnóstico, prognóstico e delineamento de uma conduta terapêutica e de controle baseada em todas as informações do exame clínico.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Salmonelose Septicêmica causada pelo sorovar *S. Dublin* é uma doença que acomete principalmente bezerros de 2 meses de idade ou no período à desmama, porém poucos são os relatos de infecção natural por *S. Dublin* nessa faixa etária. Isso se deve à negligência e ao subdiagnóstico por parte dos próprios médicos veterinários, que pela faixa etária dos animais e metodologia de trabalho não sistematizada e incompleta, especula outro diagnóstico mais frequentemente encontrado em sua rotina.

Dessa forma, o conhecimento técnico acerca da epidemiologia, patofisiologia e sintomatologia clínica da salmonelose aliado à metodologia sistemática de exame clínico, colheita adequada de materiais *ante-mortem* e *post-mortem* para realização de exames complementares para efeito diagnóstico são de extrema importância para o correto diagnóstico da enfermidade.

A realização de provas de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* é extremamente importante para o tratamento e controle da Salmonelose Septicêmica por *S. Dublin*, pois tal agente apresenta resistência à maioria das bases comerciais. Além disso, os animais que se recuperam dos sinais clínicos ainda podem apresentar uma infecção ativa pela *S. Dublin*, tornando-se portadores e uma fonte de infecção para o rebanho.

Diante disso, práticas de controle como higiene na alimentação, ambiência, conforto e controle da imunidade dos animais passam a ser as principais formas de se evitar a disseminação da doença no rebanho.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, J. S. The role of cytokines in immunity and immunopathogenesis of pirolasmoses. *Parasitol. Res.* v. 88, p. S48–S50, 2002.
- ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; CAMARGO, C. R. A.; et al. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro reagentes para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, v. 63, p. 11-18, 1996.
- AMAVISIT, P.; BROWING, G. F.; LIGHTFOOD, D.; et al. Rapid PCR detection of *Salmonella* in horse faecal samples. *Vet. Microbiol.*, v. 79, p. 63-74, 2001.
- BARRAGRY, T. B. *Growth promoting agents in veterinary drug therapy*. 1. ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1994. p.607-615.
- BARROW, P. A.; JONES, M. A.; THOMSON, N. *Salmonella*. in: GYLES, C. A.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J. G.; THOEN, C.O. *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. 4. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. Cap.14, p.231-265.
- BASARABA, R. J.; OEHME, F. W.; VORHIES, M. W.; et al. Toxicosis in cattle from concurrent feeding of monensin and dried distiller's grains contaminated with macrolide antibiotics. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 11, p. 79-86, 1999.
- BEUZON, C. R.; MERESSES, S.; UNSWORTH, K. E. et al. *Salmonella* maintains the integrity of its intracellular vacuole through the action of sifA. *EMBO J.*, v. 19, p. 3235 – 3249, 2000.
- BOCK, R.; JACKSON, L.; DE VOS, A.; et al. Babesiosis of cattle. *Parasitology*, v. 129, sup. 51, p. S247-S269, 2004.
- BOLIN, C. A.; ALT, D. P. Clinical signs, diagnosis, and prevention of bovine leptospirosis. *Bovine Practitioner*, v.33, p. 50-55, 1999.
- BRANDT, R. *Functional and phenotypic profiling of innate immunity during Salmonella infection*. 2012. 128f. Tese (Doctor of Philosophy em Systems Biology of Immune Regulation) – Center for Biological Sequence Analysis, Thecnical University of Denmark, Lyngby.
- BROWN, W. C. & PALMER, G. H. Designing blood-stage vaccines against *Babesia bovis* and *B. bigemina*. *Parasitol. Today*, v. 15, p. 275–281, 1999.
- CALLOW, L. L.; ROGERS, R. J.; DE VOS, A. J. Tick-borne diseases: cattle-pathology and serology. In: CORNER, L. A.; BAGUST, T. J. (Ed) *Australian Standard Diagnostic*

Techniques for Animal Diseases. East Melbourne: CSIRO Information Services, 1993. p. 1–16.

CARVALHO, J. G. *Influência do volume de sucedâneo ingerido e do tratamento com antibiótico e anti-inflamatório sobre o perfil bioquímico, eletrolítico e a etiologia da diarreia em bezerros*. 2013. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CARVALHO, J. G.; CARVALHO, A. U.; HEINEMANN, M. B.; et al. Estudo longitudinal da infecção por enteropatógenos em bezerros neonatos, com diarreia, sob diferentes estratégias de aleitamento. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 34, n. 6, p. 529-536, 2014.

CASWELL, J. L.; WILLIAMS, K. J. Respiratory system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. *Pathology of Domestic Animals*. 5. ed. London: Saunders Elsevier, 2007. v.2, cap. 5, p. 523-653.

CHOW, J. M.; RUSSEL, J. B. Effect of ionophores and pH on growth of *Streptococcus bovis* in batch and continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 56, n. 6, p. 1588-1593, 1990.

CLIMATE-DATA.ORG. Clima: Inhaúma. 2014. Disponível em: <<http://pt.climate-data.org/location/176435/>>. Acesso em: 06 nov. 2014.

CLSI, CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por disco-difusão. Norma Aprovada. 8. ed. Norma M2-A8, v. 23, n. 1, 2005.

COLE, J.R.; SULZER, C.R.; PULSSELY, P.R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. *Applied Microbiology*, v.5, n.6, p. 976-980, 1973.

COUTINHO, A. S. *Mannheimiose pneumônica experimentalmente induzida em bezerros pela Mannheimia (Pasteurella) haemolytica AI – cepa D153: achados do exame físico, hemograma e swabs nasal e nasofaríngeo*. 2004. 189f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

CRUZ, J. T. F. L. *Clínica médica e cirúrgica de bovinos*. 2009. 66f Relatório de estágio curricular (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde, Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

DE VOS, A. J.; POTGIETER, F. T. Bovine babesiosis. In: (Ed) COETZER, J. A. W.; THOMSON, G. R.; TUSTIN, R. C. *Infectious Diseases of Livestock*. Capetown:Oxford University Press, 1994. p. 278–294.

- DIRKSEN, G.; GRUNDER, H.D.; STOBBER, M. *Rosenberger: Exame Clínico dos Bovinos*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 420p.
- EBISUI, O.; FUKATA, J.; MURAKAMI, N.; et al. Effect of IL-1 receptor antagonist and antiserum to TNF-alpha on LPS-induced plasma ACTH and corticosterone rise in rats. *Am J Physiol.*, v. 266, n. 6, p.E986-E992, 1994.
- FLOHE S.; HEINRICH, P. C., SCHNEIDER, J.; et al. Time course of IL-6 and TNF- α release during endotoxin induced tolerance in rats. *Biochem Pharmacol*, v. 41, p. 1607-1614, 1991.
- FRACASSO, J. F. Contribuição ao entendimento da patogenia da sepse. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 29, n. 2, p. 119-127, 2008
- FRANCK, S. M.; BOSWORTH, B. T.; MOON, H. W. Multiplex PCR for enterotoxigenic, attaching and effacing, and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from calves. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, p. 1795–1797, 1998.
- GALAN, J. E.; Snapshot: effector proteins of type III Secretion systems. *Cell*, v. 130, n. 1, p. 192.e1-192.e2, 2007.
- GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; et al. Application of a microtechnique to the Agglutination Test for Leptospiral Antibodies. *Appl. Microb.*, v. 13, p. 81-85, 1965.
- GELBERG, H.B. Alimentary system. In: MCGAVIN, M.D., ZACHARY, J. F. *Pathologic basis of veterinary disease*. 4. Ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2006. Cap. 7 p. 301-392.
- GODSON, D. L.; BACA-ESTRADA, M. E.; VAN KESSEL, A. G. Regulation of bovine acute phase responses by recombinant interleukin-1 β . *Can. J. Vet.*, v.59, p.249-255, 1995.
- GREENE, C. E. *Infectious diseases of the dog and cat*. 4. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2012. p. 1354.
- GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. 9. ed. Paris: World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, 2007.
- HALL, G. A.; JONES, P. W. A study of the pathogenesis of experimental *Salmonella* Dublin abortion in cattle. *J. Comp. Path.*, v. 51, p. 53-65, 1977.
- HAMBLIN, T. Management of cold agglutination syndrome. *Transfusion Science*, v. 22, p. 121-124, 2000.

- HALIMI, H. A.; SEIFI, H. A.; RAD, M. Bovine salmonellosis in Northeast of Iran: Frequency, genetic fingerprinting and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* spp. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, v. 4, n. 1, p. 1-7, 2014.
- HINTON, M. *Salmonella* Dublin abortion in cattle: studies on the clinical aspects of the condition. *Br. Vet. J.*, v. 130, p. 556-563, 1974.
- HOUSE, J. K.; SMITH, B. P.; DILLING, G. W.; et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for serologic detection of *Salmonella* Dublin carriers on a large dairy. *Am J Vet Res*, v. 54, p. 1391–1399, 1993.
- HOUSE, J. K.; ONTIVEROS, M. M.; BLACKMER, N.M.; et al. Evaluation of an autogenous *Salmonella* bacterin and a modified live *Salmonella* serotype Choleraesuis vaccine on a commercial dairy farm. *Am J Vet Res*, v. 62, p. 1897–902, 2001.
- IICA. *Técnicas para el Diagnóstico de Babesiosis y Anaplasmosis Bovina*. San José: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 1987. 79p.
- JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. 1. ed. Philadelphia: Wiley-Blackwell, 1993. 417 p.
- JUNE, G. A.; SHERRODS, P. S.; HAMMACK, T.S.; et al. Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth and Rappaport-Vassiliadis medium for recovery of *Salmonella* from raw flesh, highly contaminated foods and poultry feed: collaborative study. *J. AOAC Int.*, v. 79, p. 1307-1323, 1996.
- KAWAZOE, U. Coccidiose. In: JUNIOR, A. B.; MACARI, M. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 2000. p.391-406.
- KERSJES, A. W.; FRIK, J. F.; WATERING, C. C. V. Bacterial ostitis in cattle. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, v. 91, p. 1537-1546, 1966.
- LAX, A.J.; BARROW, P.A.; JONES, P.W. Current perspectives in Salmonellosis. *Br. Vet. Journal*, v. 151, n. 4, p. 351-377, 1995.
- LITCHFIELD, J.H. *Salmonella* and the food industry: methods for isolation, identification and enumeration. *Crit. Rev. Food Technol.*, v. 3, p. 415-456, 1973.
- LOEB, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; RUTTEN, V. P. M. G.; et al. Dry gangrene of the extremities in calves associated with *Salmonella* Dublin infection; a possible immune-mediated reaction. *J. Comp. Pathol.*, v. 134, p. 366–369, 2006.
- MACKAY, R. J. Diseases of the alimentary tract: endotoxemia. In: SMITH, B.P. *Large animal internal medicine*. 3. ed. St. Louis: Mosby Inc, 2002. p. 633–641.

- MARQUES, A. L. A.; SIMOES, S. V. D.; GARINO JR, F.; et al. Surto de salmonelose pelo sorovar Dublin em bezerros no Maranhão. *Pesq. Vet. Bras.* v. 33, n. 8, p. 983-988. 2013.
- MASTROENI, P.; MASKELL, D. *Salmonella infections: clinical, Immunological and molecular aspects*. New York: Cambridge University Press, 2006. 402 p.
- MAXIE, M. G.; ROBINSON, W. F. Cardiovascular system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. *Pathology of Domestic Animals*, 5. ed. London: Saunders Elsevier, 2007. v.3, cap. 1, p. 1-105.
- MACGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. *Pathologic basis of veterinary disease*. 4. Ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2006. 1476 p.
- MCEWEN, S. A.; MARTIN, S. W.; CLARKE, R. C.; et al. The prevalence, incidence, geographical distribution, antimicrobial sensitivity and plasmid profiles of milk filter *Salmonella* isolates from Ontario dairy farms. *Can. J. Vet. Res.*, v. 52, p. 18-22, 1988.
- MEE, J. F. Terminal gangrene and ostitis in calves attributed to *Salmonella* Dublin infection. *Ir. Vet. J.*, v. 48, p. 22-28, 1995.
- MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. *Veterinary laboratory medicine*. 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1998. 373 p.
- MOHLER, V. L.; IZZO, M. M.; HOUSE, J. K. *Salmonella* in calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 25, p. 37-54, 2009.
- MOHLER, V. L.; HOUSE, J. Salmonellosis in ruminants. In: ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M. *Current veterinary therapy: Food animal practice*. 5. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2009. p. 106-111.
- NIELSEN, L. R.; SCHUKKEN, Y. H.; GRÖHN, Y. T.; et al. *Salmonella* Dublin infection in dairy cattle: risk factors for becoming a carrier. *Prev. Vet. Med.*, v. 65, p. 47-62, 2004.
- NIELSEN, L. R. Review of pathogenesis and diagnostic methods of immediate relevance for epidemiology and control of *Salmonella* Dublin in cattle. *Vet. Microbiol.*, v. 162, p. 1-9, 2013.
- NOVILLA, M. N. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. *Vet. Hum. Toxicol.*, v. 34, n. 1, p. 66-70, 1992.
- NOVILLA, M. N.; OWEN, N. V.; TODD, G. C. The comparative toxicology of narasin in laboratory animals. *Vet. Hum. Toxicol.*, v.36, n. 4, p. 318-323, 1994.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B. *Clinical veterinary microbiology*. London: Wolfe, 1994. 648 p.

PULLINGER, G. D.; PAULIN, S. M.; CHARLESTON, B.; et al. Systemic translocation of *Salmonella enterica* serovar Dublin in cattle occurs predominantly via efferent lymphatics in a cell-free niche and requires type III secretion system 1 (T3SS-1) but not T3SS-2. *Infect. Immun.*, v. 75, p. 5191-5199, 2007.

RADKE, B. R.; MCFALL, M.; RADOSTITS, S. M. *Salmonella* Muenster Infection in a dairy herd. *Can. Vet. J.*, v. 43, p. 443-453, 2002.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; et al. *Veterinary Medicine: a textbook of diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10. ed. Espanha: Saunders Elsevier, 2007. p. 2065.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Anti-inflammatory and immunosuppressant drugs. In: __. *Pharmacology*. 4. ed. London: Churchill Livingstone, 2001. p. 229.

RAYNOLDS, M. M. *Identification of novel virulence genes of Salmonella entérica using an array based analysis of cistrons under selection*. 2010. 143f. Dissertação (Doctor of Philosophy) – Office of Graduate Studies, Texas A&M University, College Station.

REEVES, M. W.; EVINS, G. M.; HEIBA, A. A.; et al. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other *Salmonellae* as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori*. *Comb. Nov. J. Clin. Microbiol.*, v. 27, p. 313-320, 1989.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; et al. *Doenças de Ruminantes e Eqüinos*. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. v. 2. 574 p.

RODER, J. D. Ionophore toxicity and tolerance. *Vet. Clin. Food Anim.* v. 27, n. 2, p.305-314, 2011.

ROLLINSON, J.; TAYLOR, F. G. R.; CHESNEY, J. N.. Salinomycin poisoning in horses. *Vet. Rec.*, v.121, p.126-128, 1987.

SAFRAN, N.; AIZENBERG, I.; BARK, H. Paralytic syndrome attributed to lasalocid residues in a commercial ration fed to dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 202, p.1273-1275, 1993.

SANFORD, S. E. Some respiratory and enteric diseases of cattle: an update. *Mod. Vet. Pract.* v. 65, p. 265–268, 1984.

SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J.; et al. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. *Am. J. Vet. Res.*, v. 63, n. 8, p. 1145-1150, 2002.

SCHALM, O. W., JAIN, N. C; CARROL, E. J. *Veterinary Haematology*. 3. ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1975. 807p.

SEGALL, T.; LINDBERG, A. A. *Salmonella* Dublin experimental infection in calves: protection after oral immunization with na auxotrophic *aroA* live vaccine. *J. Vet. Med.*, v. 38, p. 142-160, 1991.

SHEA, J. E.; BEUZON, C. R.; GLEESON, C.; et al. Influence of the *Salmonella typhimurium* pathogenicity island 2 type III secretion system on bacterial growth in the mouse. *Infect. Immun.*, v. 67, p. 213-219, 1999.

SILVA, D. G.; SILVA, P. R. L.; FAGLIARI, J. J. Hemograma e perfil bioquímico sérico, inclusive hemogasométrico, de bezerros infectados experimentalmente com *Salmonella* Dublin. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 62, n. 2, p. 251-257, 2010a.

SILVA, D. G.; SILVA, P. R. L.; FAGLIARI, J. J. Efficacy of florfenicol and intravenous fluid therapy for treatment of experimental salmonellosis in newborn calves. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 62, n. 3, p. 499-503, 2010b.

SILVA, D. G.; SILVA, P. R. L.; SILVA, P. C.; FAGLIARI, J. J. Serum protein concentrations, including acute phase proteins, in calves experimentally infected with *Salmonella* Dublin. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 31, n. 7, p. 551-554, 2011.

SMITH, B. P. Salmonellosis in ruminants. In: __. *Large animal internal medicine*. 4. ed. St. Louise: Mosby Elsevier; 2009. p. 877-881.

SPIER, S. J.; SMITH, B. P.; CULLOR, J. S.; et al. Persistent experimental *Salmonella* Dublin intramammary infection in dairy cows. *J. Vet. Int. Med.*, v. 5, p. 341-350, 1991.

TENOVER, F. C.; ARBEIT, R. D.; GOERING, R. V. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, Thorofare, v. 18, p. 426-439, 1997.

THOMPSON, J. P. Immunologic disease. In: ETTINGER, E. J.; FELDMAN, E. C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Toronto: Saunders, 1995. p. 2002-2029.

THOMSON, R. G.; MCGAVIN, M.; CARLTON, W.; ZACHARY, J. *Thompsons special veterinary pathology*. 3. Ed. St. Louis: Mosby Inc, 2001. p. 755.

TURNER, L. H. Leptospirosis III. Maintenance, isolation and demonstration of leptospire. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 64, p. 623-646, 1970.

UZZAU, S.; BROWN, D. J.; WALLIS, T.; et al. Host adapted serotypes of *Salmonella* entérica. *Epidemiol Infect*, v. 125, n. 2, p. 229-255. 2000.

VINCENT, J. L. Hemodynamic support in septic shock. *Intensive Care Med.*, v. 27, p. S80-S92, 2001

WALTMAN, W. D. Methods for the cultural isolation of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. *Salmonella in domestic animals*. 1. ed. London: CABI Publishing, 2000. cap. p. 355-372.

WESTLEY, J. W. Polyether antibiotics: versatile carboxylic acid ionophores produced by *Streptomyces*. *Adv. Appl. Microbiol.*, v. 22, p.177-223, 1977.

WRAY, C.; DAVIES, R. H. *Salmonella* infections in cattle. In: WRAY, C.; WRAY, A. *Salmonella in Domestic Animals*. 1. ed. London: CABI Publishing, 2000. cap.10, p.169-190.

7. ANEXOS

Anexo 1

Hemogramas de dois animais acometidos por salmonelose septicêmica em propriedade de exploração leiteira no município de Inhaúma, Minas Gerais, Brasil.

Animal	Animal 3			Animal 4	Valores de Referência (Schalm et al., 1975)
	10/12/2013	11/12/2013	12/12/2013	12/12/2013	
Eritrograma					
Plasma	Límpido	Límpido	Límpido	Límpido	Límpido
PPT (g/dl)	5,80	5,40	5,20	6,00	6 – 8
Fibrinogênio (mg/dl)	400	600	800	600	200 – 500
VG (%)	23	25	46	22	24 – 46
Hemácias (x10⁶ céls/ul)	5,86	6,83	10,80	4,81	5 – 10
Hemoglobina (g/dl)	6,30	7,60	11,80	6,20	8 – 15
VCM (fl)	39	37	43	46	40 - 60
HCM (g/dl)	10,80	11,10	10,90	12,90	11 – 17
CHCM (g/dl)	27,40	30,40	25,70	28,20	30 – 36
Leucograma					
Leucócitos (céls/μl)	7.460	5.780	11.000	11.600	4.000 – 12.000
Mielócitos % (céls/ μl)	-	2 (116)	13 (1.430)	4 (464)	0
Metamielócitos % (céls/μl)	2 (149)	7 (405)	19 (2.090)	9 (1.044)	0
Bastonetes% (céls/μl)	26 (1.940)	12 (694)	20 (2.200)	15 (1.740)	0 – 120
Segmentados % (céls/μl)	36 (2.686)	9 (520)	7 (770)	19 (2.204)	600 – 4.000
Linfócitos % (céls/μl)	30 (2.238)	54 (3.121)	23 (2.530)	45 (5.220)	2.500 – 7.500
Monócitos % (céls/μl)	6 (448)	16 (925)	18 (1.980)	8 (928)	25 – 840
Relação N/L	2,13	0,56	2,57	1,04	0,30 – 0,60
Plaquetas (x10³/μl)	224.000	227.000	174.000	368.000	100 - 800

Anexo 2

Constituintes bioquímicos de animal acometido por salmonelose septicêmica em propriedade de exploração leiteira no município de Inhaúma, Minas Gerais, Brasil.

Animal	Animal 3		Valores de Referência (Schalm et al., 1975)
	10/12/2013	11/12/2013	
Variáveis			
ALT (U/l)	69,63	57,96	11,00 – 40,00
AST (U/l)	121,68	142,74	60,00 – 125,00
FA (U/l)	143	155	0,00 – 488,00
GGT (U/l)	14,18	19,39	6,00 – 17,40
Uréia (mg/dl)	27,73	16	44,60 – 66,80
Creatinina (mg/dl)	0,97	0,7	0,50 – 2,20
Glicose (mg/dl)	88,15	42,54	40,00 – 100,00
Proteínas Totais (g/dl)	4,9	4,8	6,70 – 7,50
Albumina (g/dl)	2,29	2,2	2,50 – 3,80
Globulina (g/dl)	2,61	2,6	4,20 – 3,70

Anexo 3

Resultado de exame de cultura microbiológica em amostras de pulmão, fígado, bile, linfonodos mesentéricos e fluido peritoneal de bezerros acometidos por salmonelose septicêmica.

Material	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4
Pulmão	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.
Fígado	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.
Bile	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.
Linfonodos Mesentéricos	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.
Fluido Peritoneal	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.

Anexo 4

Resultado de teste de sensibilidade antimicrobiana in vitro das colônias de *Salmonella* sp. isoladas de vísceras de animais acometidos por salmonelose septicêmica por *Salmonella* Dublin.

Cultura	<i>Salmonella</i> sp.				
	Pulmão	Fígado	Bile	Linfonodos Mesentéricos	Fluido Peritoneal
Amoxicilina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Cefalotina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Enrofloxacina	P. Sensível	P. Sensível	P. Sensível	P. Sensível	P. Sensível
Gentamicina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Penicilina	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Sulfa+Trimetoprim	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Tetraciclina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Neomicina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Estreptomina	P. Sensível	P. Sensível	P. Sensível	P. Sensível	P. Sensível
Florfenicol	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Doxicilina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Colistina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
Ciprofloxacina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível

P. Sensível: Pouco Sensível