

Alterações patológicas em potros infectados por *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus*

Pathological changes in foals infected with *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus*

Danilo Carloto Gomes¹ Saulo Petinatti Pavarini¹ Pedro Miguel Ocampos Pedroso¹
Hugo Henrique Ferreira¹ Tatiane Terumi Negrão Watanabe¹ Marcos José Pereira Gomes^{II}
David Driemeier^{1*}

- NOTA -

RESUMO

Neste trabalho, são descritos dois casos fatais de septicemia com lesões embólicas causadas por *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus* em potros recém-nascidos. Em um dos animais, foram observados, na necropsia, pequenos nódulos esbranquiçados de aproximadamente 0,2cm de diâmetro na cortical dos rins e no outro havia uma área de coloração acinzentada no lobo diafragmático esquerdo do pulmão. As principais alterações microscópicas observadas no primeiro animal foram rins com infiltrado inflamatório multifocal a coalescente acentuado, com predomínio de neutrófilos, associado com áreas basofílicas levemente granulares compostas por grumos bacterianos. No segundo animal, o pulmão apresentava infiltrado inflamatório neutrofílico, edema, congestão e colônias bacterianas intravasculares. Em ambos os casos, colônias bacterianas foram encontradas disseminadas por vários órgãos incluindo capilares cerebrais. Nos dois casos foi isolado e identificado *A. equuli* subsp. *haemolyticus*.

Palavras-chave: *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus*, septicemia, patologia, potros.

ABSTRACT

This paper describes two fatal cases of embolic and septicemic lesions caused by *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus* in two newborn foals. In one foal was observed at necropsy small whitish nodules of approximately 0.2cm in diameter on the renal cortex and the other foal had an area of gray color in the left diaphragmatic lobe of the lung. The main histologic changes were observed in the first foal kidneys with multifocal to coalescing inflammatory suppurative infiltrates

associated with slightly granular basophilic bacterial colonies. In the second animal the lung showed neutrophilic inflammatory infiltrate, edema, congestion and presence of intravascular bacterial colonies. In both cases, the bacteria were disseminated by several organs including cerebral capillary cerebral. In both cases *A. equuli* subsp. *haemolyticus* was isolated and identified.

Key words: *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus*, septicemia, pathology, foal.

O *Actinobacillus equuli* é um bacilo Gram negativo, importante causador de mortes em potros em diversos países (BAKER, 1972; PLATT, 1973, RYCROFT et al., 1998; SCHLAFFER & MILLER, 2007). É uma bactéria oportunista, com baixa patogenicidade, que causa infecção e morte quando condições peculiares são permitidas (RYCROFT & GARSIDE, 2000). Têm sido relatados casos esporádicos dessa afecção em rebanhos ou na forma de pequenos surtos (BAKER, 1972).

Nos equinos adultos, o *A. equuli* é isolado normalmente da cavidade oral e faringe sem aparentemente causar lesão, sendo raramente isolado de placenta, swabs de útero, vagina e cérvix (PLATT, 1973; RYCROFT & GARSIDE, 2000). Nos potros, o agente é frequentemente isolado de articulações, rins, pulmão e intestino (STEWART et al., 2002).

¹Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: davetpat@ufrgs.br. *Autor para correspondência.

^{II}Laboratório de Bacteriologia Clínica e Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

Em cavalos adultos, o *A. equuli* é considerado agente causador de efusão pleural com pleuropneumonia, pleurite (PLATT, 1973; COLLINS et al., 1994), peritonite (PLATT, 1973; COLLINS et al., 1994; PATTERSON-KANE et al., 2001), hemorragia pulmonar (PUSTERLA et al., 2008), endocardite valvular (AALBÆK et al., 2007), septicemia (PATTERSON-KANE et al., 2001) e abortos (SCHLAFER & MILLER, 2007). Os animais jovens quando infectados apresentam geralmente prostração e morte repentina (BAKER, 1972; PLATT 1973; STEWART et al., 2002). Também são relatados casos de febre, diarreia (STEWART et al., 2002) e celulite facial, embora a última seja pouco comum (CASTAGNETTI et al., 2008). Após o início das manifestações clínicas, o prognóstico é desfavorável (BAKER, 1972). O objetivo do presente trabalho é descrever a ocorrência e as alterações patológicas de dois casos de embolia séptica por *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus* em potros recém-nascidos, no Estado do Rio Grande do Sul.

Dois potros foram encaminhados ao Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) para realização de necropsia. Os históricos referentes aos animais foram obtidos junto aos médicos veterinários responsáveis pelos casos. Durante as necropsias, fragmentos de diversos órgãos foram coletados e fixados em solução de formalina tamponada a 10%, processados de forma rotineira para histologia, emblocados em parafina, cortados a 5µm de espessura, corados pela hematoxilina e eosina (HE) e coloração especial de Brown-Hopps modificada (Gram) para identificação de bactérias Gram positivas e Gram negativas (PROPHET et al., 1992). Além disso, fragmentos de rim (potro 1) e pulmão (potro 2) foram coletados, mantidos refrigerados e enviados para cultivo e isolamento bacteriano. Essas amostras foram maceradas e inoculadas em placas de ágar com sangue ovino 7%; MacConkey e caldo BHI (Brain and Heart Infusion broth). As placas foram incubadas em aerobiose e em microaerofilia à temperatura de 37°C.

Os dois animais encaminhados ao SPV-UFRGS eram provenientes do Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. O primeiro caso (potro 1) era um equino, fêmea, da raça Crioula, com três dias de vida e de acordo com o proprietário, sofria rejeição ao mamar. O segundo caso (potro 2) era um equino, macho, da raça Mangalarga Marchador, com um dia de vida. De acordo com o histórico, o animal nasceu de parto normal, porém prematuro (311 dias de gestação) e a placenta não apresentava alterações. O potro aparentemente apresentava-se hígido, tendo mamado normalmente. No entanto, foi encontrado morto na manhã do dia seguinte.

Durante o exame macroscópico do potro 1, foram observados nódulos esbranquiçados de aproximadamente 0,2cm de diâmetro na superfície renal e ao corte estes eram mais evidentes na região cortical (Figura 1A). No potro 2, observou-se apenas uma área de coloração acinzentada localizada no lobo diafragmático esquerdo do pulmão.

No exame microscópico do potro 1, observou-se, no rim, infiltrado inflamatório multifocal a coalescente acentuado com predomínio de neutrófilos, associado a áreas basofílicas de aspecto levemente granular compatível com colônias bacterianas. Esse material estava presente também no interior de diversos glomérulos (Figura 1B). No fígado, foram visualizadas múltiplas áreas de infiltrado inflamatório discreto predominantemente neutrofilico também associado às colônias bacterianas. No potro 2, foram visualizados, no pulmão, infiltrado inflamatório neutrofilico, multifocal, moderado, edema e congestão difusos e moderados. Estruturas granulares basofílicas compatíveis com colônias bacterianas foram visualizadas no interior de vasos do parênquima pulmonar (Figura 1C), do córtex cerebral, do cerebelo e de ocasionais glomérulos. Na coloração de Gram, as estruturas basofílicas granulares observadas no interior de vasos e nos rins coraram-se de vermelho rosado, confirmando serem colônias de bactérias Gram negativas (Figura 1D). Nos fragmentos de rim (potro 1) e pulmão (potro 2), após 24 horas da inoculação nas placas, houve o crescimento de colônias pequenas, convexas, hemolíticas, não pigmentadas, viscosas e aderentes ao meio sólido. Pelo cultivo em MacConkey, foi evidenciado crescimento de um grande número de pequenas colônias circulares, lactoses positivas, as quais, após 48 horas de incubação, tornaram-se maiores. Por meio da coloração de Gram, foram evidenciados cocobacilos Gram negativos delicados, curtos, retos ou levemente encurvados. As características morfológicas, culturais e bioquímicas permitiram isolar e identificar o *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus* (QUINN et al., 1999; EUZÉBY 2009).

O diagnóstico de septicemia por *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus* nos dois casos apresentados foi baseado nos achados clínicos, patológicos e pelo isolamento do agente a partir de fragmento de rim e pulmão lesionados.

A via de infecção no potro pelo *A. equuli* ocorre pela cavidade oral, trato respiratório ou umbigo (RYCROFT & GARSIDE, 2000), durante ou após o nascimento (RYCROFT & GARSIDE, 2000; SCHLAFER & MILLER, 2007). Outra hipótese é que a bactéria contamine o potro no útero, por invasão

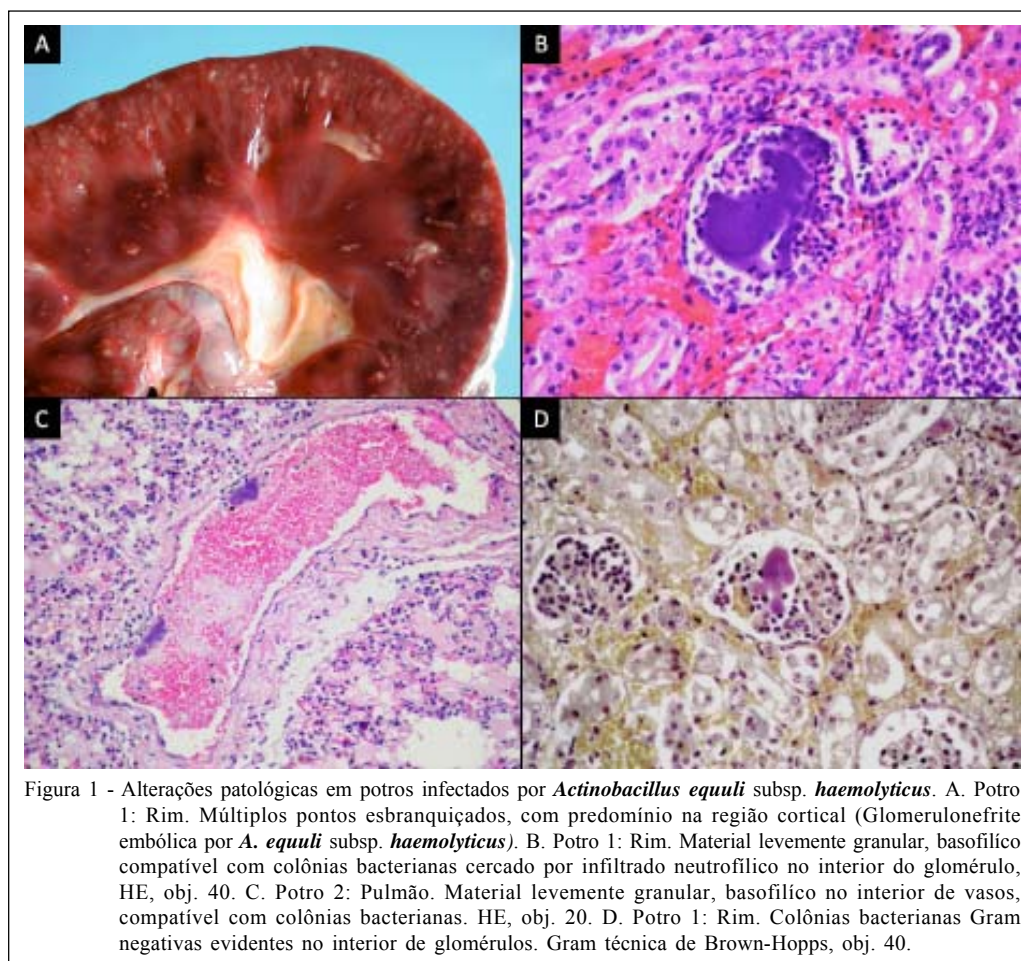


Figura 1 - Alterações patológicas em potros infectados por *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus*. A. Potro 1: Rim. Múltiplos pontos esbranquiçados, com predomínio na região cortical (Glomerulonefrite embólica por *A. equuli* subsp. *haemolyticus*). B. Potro 1: Rim. Material levemente granular, basofílico compatível com colônias bacterianas cercado por infiltrado neutrofilico no interior do glomerulo, HE, obj. 40. C. Potro 2: Pulmão. Material levemente granular, basofílico no interior de vasos, compatível com colônias bacterianas. HE, obj. 20. D. Potro 1: Rim. Colônias bacterianas Gram negativas evidentes no interior de glomerulos. Gram técnica de Brown-Hopps, obj. 40.

transplacentária (KOWALSKI, 1998; SCHLAFFER & MILLER, 2007) causando abortos e mortes por septicemia logo após o nascimento. Acredita-se que o potro 2 tenha sido infectado por invasão transplacentária já que este morreu logo após o nascimento. Potros que sobrevivem por três a quatro dias desenvolvem lesões em diversos tecidos, em razão da bacteremia (SCHLAFFER & MILLER, 2007), fato observado no potro 1, que sobreviveu três dias e apresentava lesões em diversos tecidos.

Um dos principais achados patológicos relacionados a quadros de septicemia por *A. equuli* em equinos é a glomerulonefrite embólica, caracterizada por múltiplas pequenas nodulações esbranquiçadas dispersas no parênquima renal (NEWMAN et al., 2007; SCHLAFFER & MILLER, 2007), achado visto no potro 1. A presença de material basofílico levemente granular no interior de glomerulos, fígado, pulmão e vasos sanguíneos, associado ou não ao infiltrado inflamatório composto predominantemente por células polimorfonucleares observados nos potros 1 e 2 foram achados semelhantes aos de PLATT (1973).

Os principais agentes bacterianos relacionados a quadros de septicemia em potros são *A. equuli*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sp* e *Klebsiella sp*, sendo necessário, para confirmação do diagnóstico o isolamento do agente a partir de amostras de sangue ou tecidos afetados (HENTON, 2004). No presente relato o *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus* foi isolado nos dois casos.

Fatores predisponentes têm papel fundamental na patogênese dos casos de infecção em potros durante a primeira semana de vida. Um fator predisponente considerado importante é a falha na transferência passiva de imunoglobulinas, por meio do colostro (PLATT, 1973). Na infecção neonatal em potros, a deficiência imunológica é mais importante que a patogenicidade da bactéria (RYCROFT et al., 1998). No presente relato, os dados do histórico indicam que ambos os animais possam ter sofrido falhas na transferência passiva de imunoglobulinas. Alguns fatores reduzem a efetividade da colostragem, como morte da égua, atraso ou falha na ingestão do colostro, potros prematuros e deformidades na boca (PLATT,

1973; SANCHEZ, 2005). O potro 2 era uma animal prematuro, fato que pode ter contribuído para a falha na transferência passiva pelo colostro.

Uma das principais causas de mortalidade em potros é a evolução do quadro de infecção para septicemia (PLATT, 1973), e este trabalho demonstra que o *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus* deve ser considerado em casos de mortes neonatais como agente causador de septicemia no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

REFERÊNCIAS

- AALBÆK, B. et al. *Actinobacillus equuli* subsp. *equuli* associated with equine valvular endocarditis. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologia Scandinavica*, v.115, n.12, p.1437-1442, 2007. Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/117978641/PDFSTART>>. Acesso em: 20 abr. 2010. doi: 10.1111/j.1600-0463.2007.00768.x.
- BAKER, J.R. An outbreak of neonatal deaths in foals due to *Actinobacillus equuli*. *Veterinary Record*, v.90, n.22, p.630-633, 1972.
- CASTAGNETTI, C. et al. Facial cellulitis due *Actinobacillus equuli* infection in a neonatal foal. *Veterinary Record*, v.162, n.11, p.347-349, 2008.
- COLLINS, M.B. et al. Pleural effusion associated with acute and chronic pleuropneumonia and pleuritis secondary to thoracic wounds in horse: 43 cases (1982-1992). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.205, n.12, p.1753-1758, 1994.
- EUZÉBY, J.P. **List of prokaryotic names with standing in nomenclature**. Acessado em 15 de jul. 2009. Online. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/aa/equulibis.html>>.
- HENTON, M.M. *Actinobacillus equuli* infections. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. **Infectious diseases of livestock**. 2.ed. New York: Oxford University, 2004. V.3, cap.159, p.1652-1654.
- KOWALSKI, J.J. Mechanisms of infectious disease. In: REED, S.M.; BAYLY, W.M. **Equine Internal Medicine**. Philadelphia: Saunders, 1998. Cap.2, p.61-123.
- NEWMAN, S.J. et al. Urinary system. In: McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. Cap.11, p.613-691.
- PATTERSON-KANE, J.C. et al. Septicemia and peritonitis due to *Actinobacillus equuli* infection in an adult horse. *Veterinary Pathology*, v.38, n.2, p.230-232, 2001. Disponível: <<http://vet.sagepub.com/content/38/2/230.full>>. Acesso em: 20 abr. 2010. doi: 10.1354/vp.38-2-230.
- PLATT, H. Septicemia in the foal. A review of 61 cases. *British Veterinary Journal*, v.129, n.3, p.221-229, 1973.
- PROPHET, E.B. et al. **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: American Registry of Pathology, 1992. 279p.
- PUSTERLA, N. et al. Fatal pulmonary hemorrhage associated with RTX toxin-producing *Actinobacillus equuli* subspecies *haemolyticus* infection in an adult horse. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.20, n.1, p.118-121, 2008.
- QUINN, P.J. et al. *Actinobacillus* species. In: _____. **Clinical veterinary microbiology**. Edimburg: Mosby, 1999. Cap.21, p.248-253.
- RYCROFT, A.N. et al. Serum antibody in equine neonatal septicemia due to *Actinobacillus equuli*. *Veterinary Record*, v.143, n.9, p.254-255, 1998.
- RYCROFT, A.N.; GARSIDE, L.H. *Actinobacillus* species and their role in animal disease. *Veterinary Journal*, v.159, n.1, p.18-38, 2000. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WXN-45BCF4J-1X&_user=687304&_coverDate=01%2F31%2F2000&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000037798&_version=1&_urlVersion=0&_userid=687304&md5=6078cb56ab807f3b6ae924489078cab>. Acesso em: 20 abr. 2010. doi:10.1053/tvj.1999.0403.
- SANCHEZ, L.C. Equine neonatal sepsis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v.21, n.2, p.273-293, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B7RM8-4GR2R2X-5&_user=687304&_coverDate=08%2F31%2F2005&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000037798&_version=1&_urlVersion=0&_userid=687304&md5=ed558b5eaae35a6c9868d2fc3908fb31>. Acesso em: 20 abr. 2010. doi:10.1016/j.cveq.2005.04.007.
- SCHLAFER, D.H.; MILLER, R.B. Female genital system. In: JUBB, K.V.F. et al. **Pathology of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic, 2007. V.3, cap.4, p.429-564.
- STEWART, A.J. et al. *Actinobacillus* sp. Bacteremia in foals: clinical signs and prognosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.16, n.4, p.464-471, 2002. Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/119824387/PDFSTART>>. Acesso em: 20 abr. 2010. doi: 10.1111/j.1939-1676.2002.tb01266.x.