

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM *Salmonella*
TYPHIMURIUM EM BEZERROS BUBALINOS: ESTUDO
CLÍNICO, LABORATORIAL E TERAPÊUTICO**

Virna Clemente
Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Julho de 2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM *Salmonella* TYPHIMURIUM
EM BEZERROS BUBALINOS: ESTUDO CLÍNICO,
LABORATORIAL E TERAPÊUTICO**

Virna Clemente

Orientador: Prof. Dr. José Jurandir Fagliari

Co-orientadora: Dra. Daniela Gomes da Silva

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2012

Clemente, Virna
C626i Infecção experimental com *Salmonella* Typhimurium em bezerros
bubalinos: estudo clínico, laboratorial e terapêutico / Virna Clemente.
-- Jaboticabal, 2012
xxvi, 119 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012
Orientador: José Jurandir Fagliari
Co-orientadora: Daniela Gomes da Silva
Banca examinadora: Elias Jorge Facury Filho, Rosemeri de
Oliveira Vasconcelos
Bibliografia

1. Búfalo. 2. Exames laboratoriais. 3. Florfenicol. 4. Salmonelose.
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-072:636.293.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

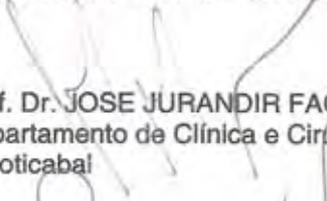
TÍTULO: INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM *Salmonella* TYPHIMURIUM EM BEZERROS
BUBALINOS: ESTUDO CLÍNICO, LABORATORIAL E TERAPÊUTICO

AUTORA: VIRNA CLEMENTE

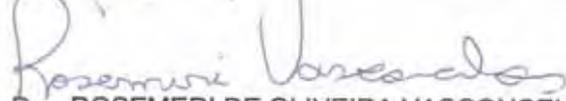
ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSE JURANDIR FAGLIARI

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. DANIELA GOMES DA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM MEDICINA
VETERINÁRIA, Área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOSE JURANDIR FAGLIARI

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Profa. Dra. ROSEMERI DE OLIVEIRA VASCONCELOS

Departamento de Patologia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. ELIAS JORGE FACURY-FILHO

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Universidade Federal de Minas Gerais / Belo Horizonte/MG

Data da realização: 06 de julho de 2012.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

VIRNA CLEMENTE - Nascida em 11 de maio de 1987, em Morón, Buenos Aires, Argentina. Técnica em Bioquímica pela Escola Técnica Estadual Conselheiro Antônio Prado (ETECAP), Campinas-SP, desde 2005. Em março de 2005, iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – UNESP, Campus de Jaboticabal, concluindo-o em dezembro de 2009. Durante esse período, foi bolsista de Iniciação Científica pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), desenvolvendo o projeto intitulado “Leucograma e proteinograma sérico, com ênfase às proteínas de fase aguda, de fêmeas bubalinas e fêmeas bovinas submetidas à laparotomia exploratória, tratadas ou não com fenilbutazona”. De março de 2010 a julho de 2012, cursou o mestrado em Medicina Veterinária, área de concentração em Clínica Médica Veterinária, na FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal, como bolsista da FAPESP.

DEDICO

Aos meus pais, Roberto (*in memoriam*) e Cristina, meus maiores incentivadores.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Jurandir Fagliari, por me receber e orientar durante estes anos e confiar em mim para executar este trabalho.

Ao meu pai Roberto, meu exemplo de pesquisador, e minha mãe Cristina, minha companheira, por participarem de cada passo desta trajetória e me darem a força que precisei e todas as condições para chegar até aqui.

À minha irmã Zaira, pelo companheirismo, incentivo e também pelos debates construtivos.

À Dra. Daniela Gomes da Silva, pelos ensinamentos, sugestões e inúmeras dúvidas sanadas, além do auxílio na execução e interpretação das análises.

Aos bezerros, adoráveis e essenciais na obtenção deste resultado.

À FAPESP, pela concessão das bolsas e auxílio financeiro.

À Dra. Dália dos Prazeres Rodrigues e Fundação Oswaldo Cruz pela doação da cepa de *Salmonella* Typhimurium.

Ao médico veterinário Rogério de Oliveira Rossi e Intervet Schering-Plough Animal Health, pela doação do Nuflor®.

Ao Prof. Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira e funcionários da granja leiteira da FCAV, pela doação do bezerro piloto.

Aos professores Dr. Antônio Carlos Alessi e Dr. Ângelo Berchieri Júnior, pelas discussões e esclarecimentos.

Ao Prof. Dr. José Carlos Barbosa, pelo auxílio com as análises estatísticas.

Aos professores Dr. Elias Jorge Facury Filho, Dra. Rosemeri de Oliveira Vasconcelos e Dr. Mário Roberto Hatayde, por participarem das bancas examinadoras e contribuírem com a redação final deste trabalho.

Aos colegas Lucas J. L. Pizauro, Cecília R. A. Silveira, André M. Santana, Luisa G. Teixeira, Kalina M. M. G. Simplicio, Annita M. Girardi, e às estagiárias Ana Paula R. Janini, Aline S. Tempesta, Laura Peguim e Jéssica, pela colaboração e pelo tempo dedicado à execução deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Apoio à Pesquisa, Paulo César da Silva, Renata Nagib Jorge e Cláudia Aparecida da Silva Nogueira, pelo convívio e a ajuda no processamento das amostras e análises laboratoriais.

Ao funcionário do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, Edson Giangrecco, pelo auxílio com o manejo dos animais.

À residente Luciana M. Curtio Soares e funcionários do departamento de Patologia Veterinária, pela realização das necropsias e exames histológicos.

À FCAV de Jaboticabal, pelo acolhimento e pela formação profissional.

Aos amigos Rodolfo, Priscila e Karla, pelo carinho na hora mais difícil.

Ao Vinícius, pela presença e auxílio na impressão dos bonecos.

Ao colega Giovanni Vargas Hernández, por me ajudar a me preparar para a seleção do programa de mestrado.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xxv
SUMMARY	xxvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Considerações gerais.....	3
2.2 Patogenia da infecção por <i>Salmonella</i> spp, sinais clínicos e achados laboratoriais	4
2.3 Infecção experimental	7
2.4 Diagnóstico microbiológico.....	8
2.5 Tratamento antimicrobiano.....	9
3. OBJETIVOS	12
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.1 Características e manejo dos animais	13
4.2 Preparo do inóculo de <i>Salmonella</i> Typhimurium	13
4.3 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos.....	15
4.4 Grupos experimentais.....	16
4.5 Exame físico	17
4.6 Coletas e processamento das amostras de sangue	17
4.7 Coleta de fezes.....	18
4.8 Análises laboratoriais.....	18
4.8.1 Hemogasometria e dosagem de eletrólitos sanguíneos	18
4.8.2 Hematologia.....	19
4.8.3 Análises bioquímicas	19
4.8.4 Isolamento bacteriológico	20
4.9 Exame anatomopatológico	21
4.10 Análise estatística.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1 Exame físico	23
5.1.1 Frequências respiratória e cardíaca	23

5.1.2	Temperatura retal.....	25
5.1.3	Consistência das fezes.....	29
5.1.4	Comportamento, apetite e grau de desidratação	32
5.2	Hemogasometria e eletrólitos sanguíneos.....	33
5.2.1	pH sanguíneo	33
5.2.2	Total de dióxido de carbono (tCO ₂), concentração de bicarbonato (HCO ₃ ⁻) sanguíneo e excesso de base (EB).....	35
5.2.3	Pressões parciais de dióxido de carbono (pCO ₂) e oxigênio (pO ₂) e saturação de oxigênio (SO ₂)	39
5.2.4	Anion gap	43
5.2.5	Concentração sanguínea de sódio (Na ⁺).....	45
5.2.6	Concentração sanguínea de potássio (K ⁺).....	47
5.2.7	Concentração sanguínea de cálcio ionizado (Ca ²⁺)	49
5.2.8	Concentração sanguínea de cloretos (Cl ⁻)	50
5.3	Hematologia.....	52
5.3.1	Eritrograma.....	52
5.3.2	Leucograma	56
5.3.3	Plaquetograma	62
5.4	Análises bioquímicas	63
5.4.1	Concentração plasmática de glicose.....	63
5.4.2	Enzimas.....	65
5.4.2.1	Atividade sérica de gamaglutamiltransferase (GGT)	65
5.4.2.2	Atividade sérica de fosfatase alcalina (ALP)	66
5.4.2.3	Atividade sérica de aspartato aminotransferase (AST).....	67
5.4.2.4	Atividade sérica de lactato desidrogenase (LDH)	69
5.4.3	Metabólitos.....	71
5.4.3.1	Concentração sérica de bilirrubina total e direta	71
5.4.3.2	Ureia e creatinina.....	74
5.4.4	Minerais.....	76
5.4.4.1	Cálcio e fósforo.....	76
5.4.4.2	Magnésio	79

5.4.4.3 Ferro	80
5.4.5 Proteínas	82
5.4.5.1 Fibrinogênio plasmático	82
5.4.5.2 Teores séricos de proteína total e albumina	83
5.4.5.3 Fracionamento eletroforético das proteínas do soro sanguíneo	86
5.5 Isolamento bacteriológico	95
5.5.1 Detecção de <i>S. Typhimurium</i> a partir de suabes retais.....	95
5.5.2 Detecção de <i>S. Typhimurium</i> a partir de amostras de órgãos	99
5.5.3 Comparação da eficiência dos caldos de enriquecimento	102
5.6 Exame anatomopatológico	103
6. CONCLUSÕES	108
7. REFERÊNCIAS.....	109

LISTA DE TABELAS

	Página
<p>Tabela 1. Frequência respiratória (média±desvio padrão; mpm) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....</p>	24
<p>Tabela 2. Frequência cardíaca (média±desvio padrão; bpm) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....</p>	25
<p>Tabela 3. Temperatura retal (média±desvio padrão; °C), no período matutino, de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....</p>	27
<p>Tabela 4. Temperatura retal (média±desvio padrão; °C), no período vespertino, de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) no dia da inoculação (12 horas) e nas 36, 60, 84, 108, 132 e 156 horas seguintes.....</p>	27
<p>Tabela 5. Período de incubação e duração da diarreia, em dias, em bezerros bubalinos infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3).....</p>	30
<p>Tabela 6. Escore da consistência das fezes (média±desvio padrão) e frequência de animais diarreicos (F) entre bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156 e 168 horas seguintes.....</p>	30
<p>Tabela 7. pH sanguíneo venoso (média±desvio padrão) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....</p>	34

Tabela 8. Total de dióxido de carbono (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	37
Tabela 9. Concentração de bicarbonato (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	38
Tabela 10. Excesso de base (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	39
Tabela 11. Pressão parcial de dióxido de carbono (média±desvio padrão; mmHg) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	41
Tabela 12. Pressão parcial de oxigênio (média±desvio padrão; mmHg) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	42
Tabela 13. Saturação de oxigênio (média±desvio padrão; %) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	43
Tabela 14. Anion gap (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	44
Tabela 15. Concentração de sódio (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S.</i>	

	Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	46
Tabela 16.	Concentração de potássio (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	48
Tabela 17.	Concentração de cálcio ionizado (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	49
Tabela 18.	Concentração de cloretos (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	51
Tabela 19.	Contagem de hemácias (média±desvio padrão; x10 ⁶ /μL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	53
Tabela 20.	Volume globular (média±desvio padrão; %) do sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	54
Tabela 21.	Teor de hemoglobina (média±desvio padrão; g/dL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	55
Tabela 22.	Contagem total de leucócitos (média±desvio padrão; x10 ³ /μL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	58

Tabela 23. Contagem de neutrófilos segmentados (média±desvio padrão; / μ L) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	59
Tabela 24. Contagem de neutrófilos bastonetes (média±desvio padrão; / μ L) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	60
Tabela 25. Contagem de linfócitos (média±desvio padrão; / μ L) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	61
Tabela 26. Contagem de plaquetas (média±desvio padrão; $\times 10^3$ / μ L) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	62
Tabela 27. Concentração plasmática de glicose (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	64
Tabela 28. Atividade sérica de gamaglutamiltransferase (média±desvio padrão; U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	65
Tabela 29. Atividade sérica de fosfatase alcalina (média±desvio padrão; U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	67
Tabela 30. Atividade sérica de aspartato aminotransferase (média±desvio padrão; U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de	

S. Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	68
Tabela 31. Atividade sérica de lactato desidrogenase (média±desvio padrão; U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	70
Tabela 32. Concentração sérica de bilirrubina total (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	72
Tabela 33. Concentração sérica de bilirrubina direta (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	73
Tabela 34. Concentração sérica de ureia (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	75
Tabela 35. Concentração sérica de creatinina (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	76
Tabela 36. Concentração sérica de cálcio total (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	77
Tabela 37. Concentração sérica de fósforo (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de S. Typhimurium e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	78

Tabela 38. Concentração sérica de magnésio (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	80
Tabela 39. Concentração sérica de ferro (média±desvio padrão; µg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	81
Tabela 40. Concentração plasmática de fibrinogênio (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	83
Tabela 41. Concentração sérica de proteína total (média±desvio padrão; g/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	84
Tabela 42. Concentração sérica de albumina (média±desvio padrão; g/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	85
Tabela 43. Concentração sérica de imunoglobulina A (PM 168.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	89
Tabela 44. Concentração sérica de ceruloplasmina (PM 111.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	90
Tabela 45. Concentração sérica de transferrina (PM 78.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹	

	UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	91
Tabela 46.	Concentração sérica de albumina (PM 63.000; média±desvio padrão; mg/dL), obtida pela técnica de eletroforese em SDS-PAGE, em bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	92
Tabela 47.	Idade (dias) e concentração sérica de imunoglobulina G total (PM 55.000 e 26.000; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) no momento anterior à inoculação (0 hora).....	92
Tabela 48.	Concentração sérica de imunoglobulina G total (PM 55.000 e 26.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	93
Tabela 49.	Concentração sérica de haptoglobina (PM 35.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	94
Tabela 50.	Concentração sérica de glicoproteína ácida (PM 33.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	95
Tabela 51.	Deteção de <i>S. Typhimurium</i> pelo exame bacteriológico a partir de suabes retais obtidos de bezerros bubalinos infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2), do momento anterior à inoculação (0h) até o último dia de positividade.....	98
Tabela 52.	Deteção de <i>S. Typhimurium</i> pelo exame bacteriológico a partir de suabes retais obtidos de bezerros bubalinos infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3), do momento anterior à inoculação (0h) até o último dia de positividade.....	98
Tabela 53.	Deteção de <i>S. Typhimurium</i> a partir de amostras de órgãos obtidos de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3).	101

Tabela 54. Detecção de <i>S. Typhimurium</i> pelo isolamento bacteriológico associados aos meios de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis (RV), selenito cistina (SC) e tetracionato Muller-Kauffmann (TMK) em amostras de suabes retais e de órgãos de bezerros bubalinos após a infecção experimental com 10^9 UFC (Grupos 2 e 3).	102
---	-----

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Inoculação oral de 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> em bezerro bubalino.	15
Figura 2. Antibiograma realizado a partir de cultura de <i>S. Typhimurium</i> , mostrando a sensibilidade bacteriana aos antibióticos florfenicol e trimetoprim/sulfametoxazol (setas) e resistência aos antibióticos doxiciclina, tetraciclina e gentamicina (estrelas).....	16
Figura 3. Colônias de <i>S. Typhimurium</i> semeadas em ágar XLT4, contendo 50 µg de ácido nalidíxico/mL.....	21
Figura 4. Variação dos valores médios da temperatura retal (°C), no período matutino , de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	28
Figura 5. Variação dos valores médios da temperatura retal (°C), no período vespertino , de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) no dia da inoculação (12 horas) e nas 36, 60, 84, 108, 132 e 156 horas seguintes.....	28
Figura 6. Variação dos valores médios do escore da consistência das fezes de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156 e 168 horas seguintes.	31
Figura 7. Características das fezes (grau 2) de bezerro bubalino infectado com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i>	31
Figura 8. Características das fezes de bezerro bubalino infectado com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> , com presença de muco e sangue.....	32
Figura 9. Variação dos valores médios do pH sanguíneo venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	35
Figura 10. Variação dos valores médios do total de dióxido de carbono (mMol/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	37

- Figura 11.** Variação dos valores médios da concentração de **bicarbonato** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 38
- Figura 12.** Variação dos valores médios do **excesso de base** (EB) (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 39
- Figura 13.** Variação dos valores médios da **pressão parcial de dióxido de carbono** (mmHg) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 41
- Figura 14.** Variação dos valores médios da **pressão parcial de oxigênio** (mmHg) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 42
- Figura 15.** Variação dos valores médios da **saturação de oxigênio** (%) de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 43
- Figura 16.** Variação dos valores médios do **anion gap** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 45
- Figura 17.** Variação dos valores médios da concentração de **sódio** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 46
- Figura 18.** Variação dos valores médios da concentração de **potássio** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados

	com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	48
Figura 19.	Varição dos valores médios da concentração de cálcio ionizado (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	49
Figura 20.	Varição dos valores médios da concentração de cloretos (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	51
Figura 21.	Varição dos valores médios da contagem de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	53
Figura 22.	Varição dos valores médios do volume globular (%) do sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	54
Figura 23.	Varição dos valores médios do teor de hemoglobina (g/dL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	55
Figura 24.	Varição dos valores médios da contagem total de leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	58
Figura 25.	Varição dos valores médios da contagem de neutrófilos segmentados (μL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	59

- Figura 26.** Variação dos valores médios da contagem de **neutrófilos bastonetes** (μL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 60
- Figura 27.** Variação dos valores médios da contagem de **linfócitos** (μL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 61
- Figura 28.** Variação dos valores médios da contagem de **plaquetas** ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 63
- Figura 29.** Variação dos valores médios da concentração plasmática de **glicose** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 64
- Figura 30.** Variação dos valores médios da atividade sérica de **gamaglutamiltransferase** (U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 66
- Figura 31.** Variação dos valores médios da atividade sérica de **fosfatase alcalina** (U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 67
- Figura 32.** Variação dos valores médios da atividade sérica de **aspartato aminotransferase** (U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 69
- Figura 33.** Variação dos valores médios da atividade sérica de **lactato desidrogenase** (U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados

	com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	70
Figura 34.	Variação dos valores médios da concentração sérica de bilirrubina total (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	72
Figura 35.	Variação dos valores médios da concentração sérica de bilirrubina direta (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	73
Figura 36.	Variação dos valores médios da concentração sérica de ureia (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	75
Figura 37.	Variação dos valores médios da concentração sérica de creatinina (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	76
Figura 38.	Variação dos valores médios da concentração sérica de cálcio total (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	77
Figura 39.	Variação dos valores médios da concentração sérica de fósforo (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	79
Figura 40.	Variação dos valores médios da concentração sérica de magnésio (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> (Grupo 2) e infectados com 10 ⁹ UFC de <i>S. Typhimurium</i> e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.....	80

- Figura 41.** Variação dos valores médios da concentração sérica de **ferro** ($\mu\text{g/dL}$) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 82
- Figura 42.** Variação dos valores médios da concentração plasmática de **fibrinogênio** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 83
- Figura 43.** Variação dos valores médios da concentração sérica de **proteína total** (g/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 85
- Figura 44.** Variação dos valores médios da concentração sérica de **albumina** (g/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 86
- Figura 45.** Traçado densitométrico do proteinograma sérico de bezerro bubalino, anteriormente à infecção com *S. Typhimurium*. 89
- Figura 46.** Variação dos valores médios da concentração sérica de **ceruloplasmina** (PM 111.000; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 90
- Figura 47.** Variação dos valores médios da concentração sérica de **transferrina** (PM 78.000; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 91
- Figura 48.** Variação dos valores médios da concentração sérica de **imunoglobulina G total** (PM 55.000 e 26.000; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes..... 93

- Figura 49.** Variação dos valores médios da concentração sérica de **haptoglobina** (PM 35.000; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes. 94
- Figura 50.** Alterações macroscópicas em bezerros bubalinos infectados experimentalmente com 10^9 UFC de *S. Typhimurium*. 106
- Figura 51.** Fotomicrografias demonstrando as principais alterações observadas ao exame histopatológico de bezerros bubalinos infectados experimentalmente com 10^9 UFC de *S. Typhimurium*. 107

INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM *Salmonella* TYPHIMURIUM EM BEZERROS BUBALINOS: ESTUDO CLÍNICO, LABORATORIAL E TERAPÊUTICO

RESUMO - O estudo objetivou avaliar as alterações clínicas e laboratoriais de bezerros bubalinos infectados experimentalmente por *Salmonella* Typhimurium e verificar o efeito do tratamento desses bezerros com o antibiótico florfenicol. Foram utilizados 15 bezerros, distribuídos em três grupos experimentais, que receberam, pela via oral, 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (exceto Grupo 1) e foram submetidos aos seguintes procedimentos: controle (Grupo 1), sem tratamento (Grupo 2), tratamento com florfenicol (Grupo 3). Os animais foram submetidos ao exame físico imediatamente antes da inoculação e a cada 12 horas até o sétimo dia subsequente. Diariamente, foram coletadas amostras de sangue, para realização de exames hematológicos, hemogasométricos, bioquímicos e proteinograma sérico, e amostras de fezes, para o isolamento de *S. Typhimurium* por meio de exames bacteriológicos. Realizou-se exame anatomopatológico de oito animais, bem como exame bacteriológico de seus órgãos. Não houve diferença entre os caldos de enriquecimento utilizados na detecção de *S. Typhimurium*. A infecção induziu diarreia, aumento da temperatura retal, início de acidose metabólica e de anemia, hipocalemia, hipoglicemia, azotemia pré-renal, hipoferremia, aumento de proteínas de fase aguda e alterações do leucograma. O tratamento com florfenicol não contribuiu com a recuperação clínica da diarreia, nem eliminou completamente a bactéria dos órgãos, sugerindo a necessidade de adequação da posologia para esta indicação.

Palavras-chave: búfalo, exames laboratoriais, florfenicol, salmonelose

***Salmonella* TYPHIMURIUM EXPERIMENTAL INFECTION IN BUFFALO CALVES:
CLINICAL, LABORATORIAL AND THERAPEUTIC STUDY**

SUMMARY - The aim of this study was to evaluate clinical and laboratory changes in experimentally *Salmonella* Typhimurium-infected buffalo calves and to verify the florfenicol antibiotic treatment effect. It were used 15 buffalo calves, distributed in three experimental groups that received, orally, 10^9 CFU of *S. Typhimurium* (except group 1). The groups were submitted to the following procedures: control (group 1), without any treatment (group 2), florfenicol treatment (group 3). All animals were submitted to physical examination just before inoculation and at every 12 hours until the seventh day. Blood samples were collected daily for hematological, blood gas, biochemical and proteinogram analysis, and faeces were also collected for isolation of *S. Typhimurium* by microbiological techniques. Anatomopathological exam as well as organs microbiological analysis of 8 animals were done. There was no difference between enrichment broths used to detect *S. Typhimurium*. *S. Typhimurium* infection induced diarrhea, increased rectal temperature, start of metabolic acidosis and anemia, hypocalcemia, hypoglycemia, prerenal azotemia, hypoferrremia, increased acute phase proteins levels and changes in leukocyte counts. Florfenicol treatment didn't contribute to clinical recovery from diarrhea neither eliminate completely the bacteria from organs, suggesting the need for dosage adequation to this use.

Keywords: buffalo, lab tests, florfenicol, salmonellosis

1. INTRODUÇÃO

Na bubalinocultura, as maiores taxas de mortalidade se registram entre os animais com até seis meses de idade, sendo grande parte dessas perdas consequência da diarreia dos bezerros (FAGIOLO et al. 2005; ZAMAN et al. 2006). Segundo RIBEIRO et al. (2000), os bezerros de búfalas apresentam diarreia principalmente durante as primeiras quatro semanas de vida e, de acordo com SUNIL CHANDRA & MAHALINGAM (1994) apud FAGIOLO et al. (2005), as doenças entéricas são responsáveis por 23,7% das mortes que ocorrem entre neonatos bubalinos. Os prejuízos econômicos advêm da perda de animais, custos com tratamento e atrasos no crescimento dos animais e no ganho genético dos rebanhos (NIAZ et al. 2000).

A diarreia neonatal trata-se, na maioria das vezes, de uma síndrome multifatorial, envolvendo a interação entre bactérias, vírus e protozoários enteropatogênicos, a imunidade colostrar, o manejo nutricional e os fatores ambientais (RADOSTITS et al. 2007). Nesse contexto, as infecções por *Salmonella* (S.) spp destacam-se na etiopatogenia das enterites neonatais. Em um levantamento bacteriológico realizado durante ocorrências de diarreias em bezerros bubalinos e bovinos, *Salmonella* spp foi a segunda bactéria mais comumente isolada, sendo a mais frequente durante a terceira semana de vida (KHAN & KHAN, 1997).

Em neonatos bubalinos, as infecções por *Salmonella* spp podem provocar, além de diarreia aguda, desidratação, septicemia, febre, anorexia e morte súbita (FAGIOLO et al. 2005). Os distúrbios decorrem da invasão bacteriana dos enterócitos, da ação local e sistêmica de substâncias enterotóxicas e endotoxinas bacterianas, da inflamação causada pelo agente etiológico e da atrofia das vilosidades intestinais (WRAY & DAVIES, 2000; JONES et al. 2008). Tais condições resultam em hipersecreção e má absorção intestinal, bem como em transtornos hematológicos, bioquímicos e hemogasométricos, de gravidade variável (CAMBIER et al. 2001; SANTOS et al. 2002b).

Salmonella spp destaca-se também em saúde pública, devido ao potencial zoonótico deste gênero bacteriano, sendo causa de infecções de origem alimentar em humanos (HUMPHREY, 2006). *S. Typhimurium*, em especial, é um importante agente zoonótico conhecido por sua resistência a diversos agentes antimicrobianos (VELGE et al. 2005).

Considerando-se a escassez de literatura a respeito do assunto, o significado econômico e a importância em saúde pública, faz-se necessário o conhecimento sobre as alterações clínicas provocadas pela infecção experimental de bezerros bubalinos com *Salmonella* Typhimurium e sobre os métodos terapêuticos utilizados no tratamento da salmonelose, visando à diminuição das perdas econômicas provocadas por esta enfermidade e à redução da excreção deste agente pelas fezes dos animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações gerais

De acordo com NIAZ et al. (2000), as diarreias de bezerros recém-nascidos são importante causa de prejuízo à criação de búfalos. As perdas econômicas incluem custos com medicamentos e assistência veterinária, atraso no ganho de peso dos rebanhos, além de muitas vezes ocasionar a morte dos animais acometidos (BARRINGTON et al. 2002; SCOTT et al. 2008). Búfalos que têm diarreia na infância, na vida adulta apresentarão menor produção de leite e carne, queda na fertilidade e maior susceptibilidade a doenças (NIAZ et al. 2000).

Embora sejam numerosos os fatores de risco associados à ocorrência de diarreia neonatal, os mais importantes são os relacionados ao bezerro, ao agente etiológico e ao ambiente, sendo a imunidade passiva, adquirida através da ingestão de colostro, o principal fator de risco (BARRINGTON et al. 2002).

Dentre os diversos patógenos envolvidos nas diarreias de neonatos bubalinos, destacam-se cepas de *Salmonella* spp, com incidência de 13 a 14% e taxa de mortalidade de 40 a 72%. Os animais mais afetados são aqueles com 1 a 12 semanas de idade (FAGIOLO et al. 2005). Os bezerros neonatos são particularmente susceptíveis à infecção devido à imaturidade de seu sistema imune, à inadequada microbiota gastrintestinal e à exposição contínua ao meio ambiente (BARRINGTON et al. 2002).

Salmonella spp é de ocorrência cosmopolita, acomete todas as espécies animais, incluindo a humana, e tem sido incriminada como causa de infecções alimentares decorrentes do consumo de carne, ovos, leite e seus derivados (HUMPHREY, 2006). Trata-se de uma bactéria pertencente à Família *Enterobacteriaceae*, Gram-negativa, intracelular facultativa, aeróbia ou anaeróbia facultativa, geralmente móvel. Contém três tipos de antígenos para identificação: somático (O), associado à parede celular e composto por lipopolissacarídeos; flagelar (H), de natureza proteica, e capsular (Vi), encontrado em alguns sorotipos de

Salmonella spp. As salmonelas se multiplicam a temperaturas entre 8°C e 45°C, pH ente 4 e 8 e atividade de água superior a 0,94 (GRIMONT et al. 2000; RADOSTITS et al. 2007; SMITH, 2010).

O gênero *Salmonella* envolve duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*. A espécie *S. enterica*, responsável pela maioria das infecções em animais domésticos, é dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. As cepas são classificadas em sorotipos de acordo com a diversidade de antígenos “O” e “H”, conforme o esquema de Kauffmann-White, sendo reconhecidos aproximadamente 2.500 sorotipos (GRIMONT et al. 2000).

S. Typhimurium e *S. Dublin* estão entre os sorotipos mais disseminados em búfalos. No entanto, nenhum sorotipo de *Salmonella* spp parece ser adaptado à espécie (FAGIOLO et al. 2005). Os sorotipos adaptados a uma determinada espécie animal geralmente estão associados à doença sistêmica ou quadro clínico grave, enquanto aqueles não adaptados estão associados às infecções assintomáticas ou gastroenterites autolimitantes (WALLIS, 2006).

S. Typhimurium abrange grande variedade de hospedeiros, dentre eles humanos, búfalos, bovinos, suínos, ovinos, equinos, roedores e aves (RABSCH et al. 2002; SINGH et al. 2010). Segundo SANTOS et al. (2002a), a infecção por *S. Typhimurium* é a principal causa de comprometimento clínico e morte de bezerros bovinos nos Estados Unidos da América.

2.2 Patogenia da infecção por *Salmonella* spp, sinais clínicos e achados laboratoriais

A principal porta de entrada para a ocorrência da infecção é a cavidade oral, pela ingestão de água e alimentos contaminados (KIRK et al. 2002; SMITH, 2010). A bactéria se instala no sistema digestório, principalmente nas porções terminais do íleo e ceco (RADOSTITS et al. 2007). A infecção resulta em uma variedade de sinais clínicos, em função de vários fatores, incluindo a idade e estado imune do animal, o sorotipo envolvido, a virulência da cepa e a dose infectante (WALLIS, 2006). Em búfalos, os

principais sinais descritos incluem anorexia, febre, diarreia e desidratação. Os sinais de diarreia profusa, aquosa e fétida, com presença de muco, sangue e fragmentos de mucosa intestinal aparecem após um período de incubação de 1 a 4 dias (FAGIOLO et al. 2005; SMITH, 2010; SANTANA, 2012).

Em alguns casos, a infecção não progride e a bactéria permanece no trato gastrointestinal como integrante da microbiota, sendo eliminada pelas fezes (WALLIS, 2006). Encontram-se na literatura descrições da prevalência de búfalos adultos como portadores de *Salmonella* spp (BOONMAR et al. 2008; AHMADI et al. 2010; SANTANA et al. 2010).

Nos casos em que a infecção evolui para doença (salmonelose), a bactéria invade a parede intestinal e provoca destruição de enterócitos, estimulando reação inflamatória caracterizada por enterite fibrinopurulenta e necrosante. Ao romper a integridade da mucosa, provoca absorção de endotoxinas e permite a secreção de água, eletrólitos, bicarbonato e proteínas para o lúmen intestinal, gerando desequilíbrio hidroeletrólítico e ácido-base (SANTOS et al. 2002a; RADOSTITS et al. 2007). As alterações supracitadas são acompanhadas de diarreia aquosa ou mucoide com fibrina e sangue, febre, anorexia, depressão e choque, sendo a taxa de mortalidade inversamente proporcional à idade dos animais atingidos (SANTOS et al. 2002a; SMITH, 2010). Por serem bactérias intracelulares facultativas, podem sobreviver e multiplicar-se dentro de macrófagos, sendo subsequentemente transportadas aos linfonodos mesentéricos e a outros órgãos (JONES et al. 2008), determinando pneumonia, meningite, poliartrite, osteíte e gangrena seca das extremidades, dentre outras complicações (WRAY & DAVIES, 2000).

Os animais podem, ainda, se recuperar do quadro clínico e transformar-se em carreadores ativos, excretando o microrganismo continua ou intermitentemente nas fezes por semanas ou até anos, contaminando o ambiente, alimentos e suas crias (WRAY & DAVIES, 2000). Estudo realizado por CUMMINGS et al. (2009) em rebanhos bovinos encontrou que a excreção fecal de *S. Typhimurium* por animais que se recuperaram da doença teve duração mediana de 66 dias.

Embora a febre seja um dos sinais clínicos mais comuns durante a salmonelose, a sua ocorrência nem sempre é facilmente caracterizada em búfalos, em decorrência da deficiente termorregulação da espécie, em função da baixa densidade de glândulas sudoríparas na pele desses animais. Assim, aumentos fisiológicos da temperatura corporal podem estar diretamente relacionados a altas temperaturas ambientais (DAS et al. 1999).

A desidratação que se desenvolve pode ser monitorada clinicamente, pela avaliação do pregueamento da pele, tempo de preenchimento capilar ou grau de retração do globo ocular. No laboratório, a avaliação se faz pela mensuração seriada do volume globular e da concentração de proteínas plasmáticas, que aumentam à medida que ocorre perda de água em razão da desidratação (FETTMAN, 2007).

As alterações hematológicas que ocorrem nas enterites são variadas. Relata-se leucocitose associada à neutrofilia e linfopenia em bezerros bubalinos acometidos por diarreia induzida experimentalmente (NIAZ et al. 2000). Em seu estudo, SANTOS et al. (2002a) relataram que bezerros bovinos infectados experimentalmente com *S. Typhimurium* apresentaram, além do aumento do volume globular, da contagem de hemácias e do teor de hemoglobina, neutropenia, linfopenia, hipoglicemia, elevação das concentrações de nitrogênio ureico sanguíneo, creatinina e fibrinogênio, bem como diminuição das concentrações de CO₂ total, cálcio, sódio, cloro, proteína total e albumina. SILVA et al. (2010b) relataram ainda menores concentrações séricas de ferro e magnésio em bezerros bovinos com salmonelose experimental. Durante as diarreias, ocorre ainda alteração da calemia, seja pela perda fecal de potássio ou pela sua redistribuição durante a acidose, podendo a concentração do eletrólito se tornar maior, normal ou menor (SCOTT et al. 2008).

A acidose metabólica pode ser identificada em animais diarreicos como consequência da perda de bicarbonato pelo trato intestinal e da produção de ácidos orgânicos no cólon. Adicionalmente, a diminuição das perfusões tecidual e renal, provocada pela desidratação, resulta na produção de ácido lático e na diminuição da excreção urinária de íons hidrogênio, respectivamente, exacerbando o quadro de acidose (SCOTT et al. 2008). Alguns estudos envolveram a avaliação das variáveis

hemogasométricas em bezerros bubalinos (SINGH & KOHLI, 1980; SOBTI et al. 1984; RANDHAWA et al. 1993), porém, nenhum investigando o equilíbrio ácido-base em animais diarreicos.

GRODZKI et al. (1991) verificaram, em bezerros com diarreia, aumento das atividades séricas das enzimas fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase, o que poderia sugerir a presença de lesão hepática nesses animais. Por outro lado, SANTOS et al. (2002a) não observaram alterações nas atividades séricas dessas enzimas em bezerros acometidos por salmonelose.

Foram identificadas também alterações no teor sérico de proteínas de fase aguda, em especial da haptoglobina, em bezerros infectados experimentalmente com *Salmonella* spp (DEIGNAN et al. 2000). A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), que possibilita a identificação de mais de 20 proteínas, mesmo em baixas concentrações ou em microquantidade de plasma ou soro (FAGLIARI et al. 2003), foi usada por SILVA (2007) e ÁVILA (2009) para a determinação do proteinograma sérico durante a salmonelose em bezerros bovinos. Analisando os resultados, SILVA (2007) detectou aumento das concentrações de haptoglobina 72 horas após a infecção por *S. Dublin*, enquanto ÁVILA (2009) não constatou aumento significativo no teor sérico dessa proteína em bezerros infectados por *S. Typhimurium* e não tratados. Em búfalos sadios, SATIJA et al. (1979) identificaram, por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida, 11 bandas proteicas no soro sanguíneo. Entretanto, apesar da importância das proteínas de fase aguda no diagnóstico e prognóstico de doenças, são escassos os relatos da determinação destas proteínas em búfalos em diferentes situações clínicas (HORADAGODA et al. 2001; FAGLIARI et al. 2010).

2.3 Infecção experimental

Quanto ao desenvolvimento de modelos experimentais para estudo da salmonelose, encontram-se na literatura relatos do uso de inóculos contendo entre 10^8 e 10^{10} UFC de *S. Typhimurium* na indução dessa enfermidade em bezerros bovinos

(SANTOS et al. 2002a; FECTEAU et al. 2003; ÁVILA, 2009). Ainda em bovinos, sob condições experimentais, de maneira geral, a infecção com 10^4 a 10^7 UFC causa diarreia transitória que persiste por 48 a 192 horas, enquanto doses entre 10^8 a 10^{11} UFC causam doença septicêmica de evolução aguda, com morte em curto espaço de tempo (TSOLIS et al. 1999; SANTOS et al. 2002a). Bezerros bubalinos manifestaram quadro diarreico 24 a 96 horas após serem inoculados com 10^8 UFC de *S. Dublin*, com a recuperação espontânea ocorrendo entre 9 e 11 dias após a infecção (SANTANA, 2012).

É importante salientar que o número de bactérias necessário para causar a doença depende da virulência da cepa, da idade e estado imunológico e nutricional do hospedeiro e das condições ambientais (JONES et al. 2008). GRAHAM et al. (2005) atentam para a provável influência de fatores ambientais sobre a capacidade de sobrevivência e dispersão de *S. Typhimurium* na natureza, o que levaria a variações individuais na manifestação clínica da doença, e também de uma propriedade para outra.

2.4 Diagnóstico microbiológico

Para o diagnóstico de salmonelose, o isolamento bacteriológico de *Salmonella* spp a partir de amostras ambientais e clínicas provenientes dos animais, seguida da sorotipagem, é o método de referência. Os métodos tradicionais para esse isolamento baseiam-se em etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento em caldos seletivos, plaqueamento em meios também seletivos e caracterização das colônias suspeitas nos testes bioquímicos e sorológicos (WALTMAN, 2000; WRAY & DAVIES, 2000).

Segundo WALTMAN (2000), existem três tipos de caldos de enriquecimento seletivo: selenito, tetracionato e Rappaport-Vassiliadis. Há trabalhos que priorizam a utilização de um ou outro caldo (NASCIMENTO et al. 2000; HARA-KUDO et al. 2001). O caldo selenito cistina obteve maior eficiência que os caldos tetracionato Muller-Kauffmann e Rappaport-Vassiliadis na recuperação de *S. Dublin* das fezes de bezerros (SILVA et al. 2008). FERNANDES et al. (2004) indicam o uso simultâneo de dois ou

mais caldos de enriquecimento. SCHÖNENBRÜCHER et al. (2008) defendem a combinação dos caldos tetracionato Muller-Kauffmann e Rappaport-Vassiliadis. Já quanto ao isolamento bacteriano, o uso do meio cromógeno ágar xilose lisina tergitol 4 (XLT4) é recomendado para a detecção de *S. Typhimurium* a partir de amostras fecais. A combinação de enriquecimento em caldo Rappaport-Vassiliadis com isolamento neste ágar obteve 100% de especificidade na recuperação de *Salmonella* spp das fezes de suínos (MICHAEL et al. 2003).

2.5 Tratamento antimicrobiano

Tendo em vista as dificuldades na prevenção e na erradicação da salmonelose, o estabelecimento de terapias eficientes normalmente constitui a maneira mais prática de reduzir os prejuízos causados pela doença nos criatórios. Tratamentos práticos e econômicos são indispensáveis para reduzir a incidência, a mortalidade e as perdas econômicas associadas às diarreias neonatais. O entendimento dos mecanismos causadores é fundamental para uma abordagem terapêutica racional, a qual envolve o uso de drogas para restringir os efeitos da doença e bloquear sua evolução (CONSTABLE et al. 1996).

Para o tratamento da salmonelose, deve-se considerar a utilização de soluções eletrolíticas pela via oral ou parenteral, administradas o mais precocemente possível, bem como o uso de antiinflamatórios não esteroidais, para controlar a cascata da inflamação (SMITH, 2010). Embora controverso, também é indicado o uso da antibioticoterapia, com o intuito de combater o agente e minimizar a sua excreção (VAN DUIJKEREN & HOUWERS, 2000; FECTEAU et al. 2003). Em decorrência de ser uma bactéria intracelular facultativa, a eficiência terapêutica contra *Salmonella* spp será maior se o antimicrobiano selecionado atingir maior concentração no meio intracelular (SMITH, 2010).

Há grande interesse científico em relação ao uso criterioso de antimicrobianos no tratamento das infecções nos animais de produção, bem como na utilização de antibióticos exclusivos para medicina veterinária. Isso ocorre, principalmente, devido à

possibilidade do aparecimento e da disseminação de patógenos bacterianos resistentes a diversos princípios ativos, capazes de infectar o ser humano. Essas infecções podem prolongar o tempo de evolução da doença e, se não tratadas com antimicrobianos alternativos, geralmente mais caros, resultam em elevadas taxas de morbidade e de mortalidade (WHITE et al. 2000). Em estudo desenvolvido por SINGH et al. (2010), foi frequente a múltipla resistência a antibióticos entre cepas de *Salmonella* spp isoladas de búfalos, em especial a aminoglicosídeos, oxitetraciclina, ampicilina e cefalexina, sendo muitos dos sorovares isolados associados a diarreia nos bezerros.

O florfenicol [d-treo-3-fluoro-2-dicloroacetamido-1-(4-metilsulfonilfenil)-1-propanol], um análogo estrutural do tianfenicol e do cloranfenicol, foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1996 para uso em animais de produção, mas não para uso em humanos (WHITE et al. 2000). Trata-se de um antibiótico bacteriostático que atua inibindo a síntese protéica microbiana. Este composto apresenta espectro de atividade similar ao do cloranfenicol, sendo ativo em concentrações menores contra ampla variedade de agentes bacterianos, inclusive aqueles resistentes ao cloranfenicol (PAPICH & RIVIERE, 2009). Outro aspecto vantajoso deste antimicrobiano é a ausência de risco de anemia aplásica, frequentemente associada ao uso de seu análogo (SAMS, 1997). Quando administrado pela via intramuscular em bovinos, o florfenicol é absorvido lenta e quase completamente, apresentando uma biodisponibilidade de 78%. Nessa mesma espécie, sua meia-vida de eliminação é de 2 a 4 horas. Porém, administrações intramusculares podem prolongar o tempo de eliminação, devido à lenta absorção, conferindo efeito prolongado à droga (PAPICH & RIVIERE, 2009). O florfenicol apresenta boa distribuição tecidual, atingindo concentrações relativamente elevadas nos pulmões, músculos, bile, intestino delgado, rins e urina. Em bovinos, a maior parte da droga (64%) é excretada na forma original pela urina, o resto ocorre na forma de metabólitos urinários e pelas fezes (DOWLING, 2006; PAPICH & RIVIERE, 2009).

ÁVILA (2009) e SILVA et al. (2010a), estudando bezerros infectados, respectivamente, por *S. Typhimurium* e *S. Dublin*, verificaram que o tratamento com

florfenicol reduziu a eliminação fecal do agente e melhorou o quadro clínico dos bezerros.

Considerando a importância da salmonelose como causa de morte em bezerros bubalinos durante as primeiras semanas após o nascimento, a carência de estudos sobre a utilização de tratamentos eficientes que garantam resultados satisfatórios sem favorecer o surgimento de bactérias resistentes aos antimicrobianos utilizados em medicina humana e a necessidade do desenvolvimento de técnicas que permitam o monitoramento epidemiológico dessa enfermidade, propôs-se a realização deste trabalho.

3. OBJETIVOS

1. Avaliar as alterações clínicas e laboratoriais de bezerros bubalinos infectados experimentalmente com *Salmonella* Typhimurium, de modo a compreender a evolução dessa doença e obter informações auxiliares no seu diagnóstico e prognóstico.
2. Avaliar o efeito do tratamento de bezerros bubalinos infectados experimentalmente com *S. Typhimurium*, utilizando-se o antibiótico florfenicol.
3. Avaliar a eficiência dos caldos Rappaport-Vassiliadis, selenito-cistina e tetracionato Muller-Kauffmann no isolamento bacteriológico de *S. Typhimurium* a partir de amostras de fezes e órgãos de bezerros bubalinos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Características e manejo dos animais

Ao longo do estudo, foram utilizados 15 bezerros bubalinos sadios da raça Murrah, no primeiro mês de vida, com peso médio de 52 Kg e resultado negativo para *Salmonella* spp ao exame bacteriológico das fezes. Os bezerros foram obtidos de rebanhos comerciais da região de Marília e de Ibitinga – SP, sendo que todos eles ingeriram o colostro materno. Durante o período experimental, os animais foram alojados em abrigos individuais (medindo 1,30 m x 1,50 m x 1,45 m) suspensos a 0,4 m do chão e localizados numa área externa, de piso de concreto, do Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV– UNESP–Campus de Jaboticabal. Os animais receberam quatro litros de leite *in natura* pasteurizado tipo A¹ ao dia, divididos em dois repastos (às 7:00 e às 16:00 horas), além de ração comercial inicial², feno e água à vontade. A higienização dos abrigos e vasilhames era realizada duas vezes ao dia com detergente, água e desinfetante a base de amônia quaternária e glutaraldeído³.

O trabalho de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV-UNESP, sob o protocolo nº 004929/10.

4.2 Preparo do inóculo de *Salmonella Typhimurium*

Os inóculos para a indução da infecção experimental (desafio) foram preparados a partir de uma amostra de *S. Typhimurium* (registro IOC 6333/06), sensível ao antibiótico florfenicol, originalmente isolada de fezes de bovinos infectados durante surto de salmonelose e arquivada no Centro de Referência de Enterobactérias do Departamento de Bacteriologia da Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos-RJ.

¹ Matilat, Laticínios Matinal, Catanduva, São Paulo.

² Fri-Bezerros, Nutreco Fri-Ribe, Pitangueiras, São Paulo.

³ AVT 500, Poly Sell, Louveira, São Paulo.

Para assegurar a identidade da bactéria utilizada no preparo do inóculo e conferir maior seletividade ao meio de cultura empregado para seu isolamento, foi induzida a resistência da cepa de *S. Typhimurium* ao ácido nalidíxico (Nal). Esta foi realizada centrifugando-se uma alíquota do inóculo fresco a 13.000 x g, por 20 minutos. Após a separação do sobrenadante, uma alçada do precipitado foi inoculada em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*)⁴ contendo Nal na concentração de 25µg/mL e, após turvação, semeada em ágar nutriente⁵. Após crescimento, inoculou-se uma colônia em caldo BHI contendo 50 µg de Nal/mL, com subsequente plaqueamento em ágar nutriente após turvação. Fez-se o teste inoculando-se uma colônia supostamente resistente em ágar verde brilhante modificado⁶ com 50µg de Nal/mL, tendo ocorrido crescimento da mesma, o que caracterizou a obtenção de resistência da cepa a este antibiótico.

Os inóculos foram preparados de acordo com o preconizado por FECTEAU et al. (2003), com algumas modificações. Inicialmente foi feito o cultivo da bactéria em 10 mL de caldo BHI, durante 24 horas a 37°C, sob agitação. Após o crescimento, foram realizadas diluições seriadas de razão 10 a partir de uma alíquota dessa cultura em tubos contendo caldo BHI, mantidos em banho de gelo. Em seguida, foi feito o plaqueamento de cada uma das diluições em ágar nutriente e, após o período de incubação (24h/37°C), foi realizada a contagem do número de colônias pela técnica de MILES & MISRA (1938), de forma a se determinar a concentração de colônias/mL nas diluições seriadas e na cultura original, armazenada sob refrigeração. Cada bezerro recebeu, aproximadamente, 10⁹ unidades formadoras de colônia (UFC), adicionadas em 10 mL de caldo BHI, administradas por via oral, com auxílio de seringa estéril (Figura 1), imediatamente antes da primeira mamada do dia.

⁴ CM0225, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra

⁵ CM0003, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

⁶ CM0329, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.



Figura 1. Inoculação oral de 10^9 UFC de *S. Typhimurium* em bezerro bubalino.

4.3 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

Foi realizado teste de susceptibilidade aos antimicrobianos em ágar Mueller-Hinton⁷ para comprovar a sensibilidade da cepa de *S. Typhimurium* utilizada no preparo do inóculo ao antibiótico florfenicol (escolhido para o tratamento do Grupo 3) e também para confirmar se as salmonelas isoladas nas fezes e órgãos dos bezerros após a inoculação oral apresentavam o mesmo padrão de sensibilidade ou resistência, indicando a origem comum das bactérias. Para isso, foi aplicado o método de Kirby-Bauer (BAUER et al. 1966), utilizando-se discos comerciais⁸ impregnados com os antibióticos ácido nalidíxico, ampicilina, ceftiofur, cloranfenicol, doxiciclina, eritromicina, florfenicol, gentamicina, tetraciclina e trimetoprim/sulfametoxazol.

Para a realização do antibiograma, a suspensão bacteriana foi inoculada em caldo triptona de soja⁹ e ajustada para o padrão McFarland de turbidez de 0,5. Posteriormente, os inóculos foram semeados em ágar Mueller-Hinton utilizando suabes estéreis. Após um período de 3 a 5 minutos, os discos contendo antibióticos foram colocados na superfície do ágar, respeitando-se uma distância mínima de 24 mm entre os mesmos. As cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC

⁷ CM0337, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

⁸ Sensifar, Cefar Diagnóstica, São Paulo, São Paulo.

⁹ CM0129, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

27853 foram utilizadas como controle. As placas de cultura foram invertidas e colocadas em estufa a 37°C, 15 minutos após a colocação dos discos, e a leitura foi realizada 16 a 18 horas após a incubação (Figura 2). A interpretação dos resultados foi realizada baseando-se no diâmetro das zonas de completa inibição, conforme recomendação do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2008).

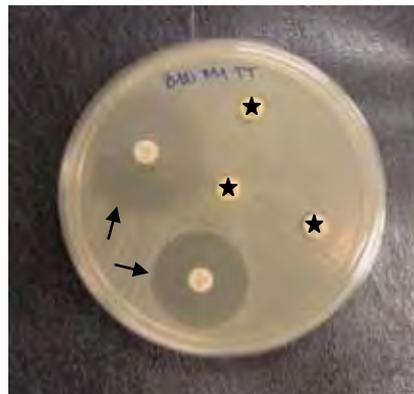


Figura 2. Antibiograma realizado a partir de cultura de *S. Typhimurium*, mostrando a sensibilidade bacteriana aos antibióticos florfenicol e trimetoprim/sulfametoxazol (setas) e resistência aos antibióticos doxiciclina, tetraciclina e gentamicina (estrelas).

4.4 Grupos experimentais

Os bezerros bubalinos foram alocados aleatoriamente em três grupos experimentais, constituídos por 5 bezerros cada, submetidos aos seguintes tratamentos:

Grupo 1: administração oral de 10 mL de caldo BHI (grupo controle).

Grupo 2: administração oral de 10^9 UFC de *Salmonella* Typhimurium suspensas em 10 mL de caldo BHI.

Grupo 3: administração oral de 10^9 UFC de *S. Typhimurium* suspensas em 10 mL de caldo BHI e tratamento intramuscular com 20 mg de florfenicol¹⁰/Kg, em 2 doses, com intervalo de 48 horas, com a primeira dose às 96 horas e a segunda às 144 horas após a inoculação.

¹⁰ Nuflor, Intervet Schering-Plough Animal Health, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

4.5 Exame físico

Os bezerros foram submetidos ao exame físico (FEITOSA, 2008), imediatamente antes da inoculação e, a partir de então, a cada 12 horas, para avaliação da temperatura retal e da consistência das fezes, e a cada 24 horas, para os demais parâmetros (frequência respiratória, frequência cardíaca, comportamento, apetite e grau de desidratação), ao longo de sete dias após a infecção experimental ou até o final da evolução clínica da doença.

Receberam escores a consistência das fezes: 0 = normal (fezes pastosas, bem formadas), 1 = diarreia discreta (fezes pastosas, com tendência a líquidas), 2 = diarreia moderada a grave (fezes líquidas) (Figura 3); o comportamento: 0 = normal, 1 = apático e 2 = decumbente (animal com dificuldade para permanecer em estação); o grau de desidratação: 0 = ausente (turgor de pele normal e olhos brilhantes), 1 = leve (turgor de pele discretamente diminuído e olhos não retraídos), 2 = moderada a severa (turgor de pele diminuído e olhos retraídos) e o apetite: 0 = normal, 1 = diminuído e 2 = ausente (TREMBLAY, 1990). A temperatura retal foi aferida por meio de termômetro clínico e o peso corporal foi mensurado no início e ao término do estudo.

4.6 Coletas e processamento das amostras de sangue

As coletas de sangue foram realizadas imediatamente antes da inoculação (0h) e a partir daí, a cada 24 horas até o sétimo dia após a inoculação (24 a 168 horas). As coletas foram realizadas, após antissepsia local com álcool iodado, mediante a punção da veia jugular utilizando-se sistema de coleta a vácuo¹¹ e agulha 25 x 8 mm. Foram obtidas amostras de 5 mL de sangue em frascos de plástico siliconizados, contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), para a realização de hemograma; amostras de 5 mL de sangue em frascos com anticoagulante fluoretado, para a avaliação da glicemia e amostras de 20 mL de sangue em frascos sem anticoagulante, para as análises bioquímicas do soro sanguíneo. Para as análises hemogasométricas, foram

¹¹ BD Vacutainer, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Juiz de Fora, Minas Gerais.

coletadas amostras de sangue em seringas plásticas¹² de 1 mL, contendo heparina sódica¹³ como anticoagulante, e mantidas sob refrigeração até o processamento das amostras.

As amostras coletadas com anticoagulante fluoretado foram imediatamente centrifugadas a 1.000 x g durante cinco minutos, obtendo-se o plasma necessário à dosagem de glicose. As amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas a 1.000 x g durante 10 minutos, obtendo-se alíquotas de 1,5 mL de soro, que foram armazenadas em tubos tipo eppendorf, previamente identificados, e congeladas (-20°C) até o momento da realização das análises.

4.7 Coleta de fezes

Com o auxílio de suabes estéreis, foram coletadas, em triplicata, amostras de fezes diretamente da ampola retal de todos os bezerros, para avaliar a presença de *Salmonella* Typhimurium, imediatamente antes da inoculação e, em seguida, diariamente, até a obtenção de dois diagnósticos negativos no isolamento bacteriológico com intervalo de 15 dias (RADOSTITS et al. 2007).

4.8 Análises laboratoriais

As amostras de sangue total, plasma, soro sanguíneo, fezes e órgãos foram analisadas no Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV– UNESP- Campus de Jaboticabal.

4.8.1 Hemogasometria e dosagem de eletrólitos sanguíneos

As variáveis hemogasométricas pH, dióxido de carbono total (tCO₂), bicarbonato (HCO₃⁻), excesso de base, pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂), pressão parcial de oxigênio (pO₂), saturação de oxigênio (SO₂) e *anion gap*, avaliadas nas amostras de sangue venoso heparinizado, foram mensuradas em um analisador

¹² Injex Indústrias Cirúrgicas Ltda., Ourinhos, São Paulo.

¹³ Actparin, Laboratório Bergamo, Taboão da Serra, São Paulo.

automático¹⁴ de pH e gases sanguíneos. Nessa mesma ocasião, foram mensuradas as concentrações sanguíneas de sódio (Na⁺), potássio (K⁺), cálcio ionizado (Ca²⁺) e de cloretos (Cl⁻) no mesmo equipamento.

4.8.2 Hematologia

De cada amostra de sangue venoso coletada com anticoagulante EDTA foram aferidos os dados relativos à contagem de hemácias, o volume globular, o teor de hemoglobina e as contagens de leucócitos e plaquetas, em aparelho automático¹⁵. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada a partir da contagem em esfregaço sanguíneo corado de 100 células, com corante de Rosenfeld modificado, em microscopia óptica de luz (GARCIA-NAVARRO, 2005).

4.8.3 Análises bioquímicas

Foram avaliadas a concentração plasmática de glicose (método enzimático de PAP); as atividades séricas de gamaglutamiltransferase (método de Szasz modificado), fosfatase alcalina (método de Bowers e Mc Comb modificado), aspartato aminotransferase (método cinético UV-IFCC) e de lactato desidrogenase (método do piruvato-lactato); e as concentrações séricas bilirrubina total e direta (método de Sims-Horn), ureia (método enzimático UV), creatinina (método Labtest), cálcio total (método CPC), fósforo (método de Daly e Ertingshausen modificado), magnésio (método Labtest), ferro (método de Goodwin modificado), proteínas totais (método do biureto) e albumina (método verde de bromocresol). Os testes foram realizados utilizando-se conjuntos de reagentes de uso comercial¹⁶. As leituras das análises bioquímicas foram realizadas em espectrofotômetro semiautomático¹⁷, com comprimentos de onda específicos para cada constituinte. O teor plasmático de fibrinogênio foi obtido pelo método de precipitação pelo calor e leitura em refratômetro¹⁸ (MILLAR et al. 1971). O

¹⁴ Omni C, Roche Diagnostics, Mannheim, Baden-Württemberg, Alemanha.

¹⁵ pocH – 100 iV Diff, Sysmex, Kōbe, Hyōgo, Japão.

¹⁶ Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Minas Gerais.

¹⁷ Labquest, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Minas Gerais.

¹⁸ ATAGO CO., Tóquio, Japão.

proteinograma sérico foi obtido pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS–PAGE), proposta por WEBER & OSBORN (1969). Por meio desta técnica, foi verificado o teor de anticorpos colostrais, conforme indicado por FAGLIARI et al. (2006).

4.8.4 Isolamento bacteriológico

O isolamento de *S. Typhimurium* a partir das amostras de suabes retais foi realizado de acordo com as recomendações de SANTOS et al. (2002a), com algumas modificações. Os suabes coletados foram colocados em tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis¹⁹ (RV), caldo selenito-cistina²⁰ (SC), caldo tetracionato Muller-Kauffmann²¹ (TMK), sendo estes cultivados por 24 horas a 37°C. Posteriormente, uma alçada de cada um dos caldos de enriquecimento seletivo foi semeada em ágar XLT4²², contendo ácido nalidíxico na concentração de 50 µg/mL, e incubado a 37°C por 48 a 96 horas. Colônias apresentando morfologia característica do gênero *Salmonella* (Figura 3) foram bioquimicamente testadas, utilizando-se ágar tríplice açúcar ferro²³ (TSI) e ágar lisina ferro²⁴ (LIA). Após a comprovação bioquímica, foi realizada soroglutinação em lâmina, utilizando-se soros²⁵ polivalente antiantígenos somáticos (anti-O) de *Salmonella* spp e antiantígenos somáticos do sorogrupo B, no qual se inclui *S. Typhimurium*.

¹⁹ CM0866, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

²⁰ CM0699, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

²¹ CM0343, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

²² 223420 e 235310, BD Difco, Becton, Dickinson and Company, Sparks, Maryland, EUA.

²³ CM0277, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

²⁴ CM0381, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

²⁵ Probac do Brasil, São Paulo, São Paulo.



Figura 3. Colônias de *S. Typhimurium* semeadas em ágar XLT4, contendo 50 µg de ácido nalidíxico/mL.

Amostras de órgãos dos animais submetidos à necropsia (tonsilas, linfonodos submandibulares, pulmões, fígado, baço, intestinos delgado e grosso, linfonodos mesentéricos e rins) foram coletadas assepticamente, utilizando-se instrumental estéril. Os fragmentos dos órgãos foram transferidos para sacos plásticos estéreis e diluídos em água peptonada²⁶ tamponada a 2% (1:10). As amostras foram homogeneizadas²⁷ e incubadas por 24 horas a 37°C. Após esta etapa de pré-enriquecimento, alíquotas de 1 mL foram transferidas para caldos RV, SC e TMK, incubadas e processadas sob as mesmas condições descritas para os suabes retais.

4.9 Exame anatomopatológico

Ao término do período experimental, foi realizada a eutanásia de um animal do grupo controle (Grupo 1), três animais do Grupo 2 e três animais do Grupo 3, utilizando 50 mg de cloridrato de xilazina²⁸ IV e 400 mg de cloridrato de lidocaína²⁹ pela via intratecal, por indivíduo. Realizaram-se, no Departamento de Patologia Veterinária da FCAV – Campus de Jaboticabal, os exames necroscópicos desses animais, bem como o de um bezerro do Grupo 3, que veio a óbito naturalmente. Nessa ocasião, foram coletados fragmentos de tonsilas, linfonodos submandibulares, pulmões, fígado, baço,

²⁶ CM0509, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra.

²⁷ Homogeneizador de amostras MA 440, Marconi, Piracicaba, São Paulo.

²⁸ Xilazin, Syntec, Hortolândia, São Paulo.

²⁹ Xylestesin 2% S/V, Cristália, Itapira, São Paulo.

intestino delgado e grosso, linfonodos mesentéricos e rins, para a realização de exames histopatológicos (WINTER, 1969; VASCONCELOS, 1988). Esses fragmentos de tecidos foram fixados em formalina a 10% tamponada com fosfatos (pH 7,2) e então incluídos em parafina para a realização de cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina (HE). Os cortes histológicos foram avaliados em microscopia de luz (BACHA & BACHA, 2000; TOLOSA et al. 2003).

4.10 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para comparação entre pares de médias, com auxílio do programa estatístico AgroEstat (BARBOSA & MALDONADO JR, 2011).

Para as variáveis consistência das fezes e excesso de base, empregou-se a análise de variância não paramétrica, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Dunn para comparação entre pares de médias, com auxílio do programa estatístico computadorizado GrafPad Prism (Versão 3.0).

Os resultados do isolamento bacteriológico foram comparados pelo teste do qui-quadrado de McNemar com auxílio do programa Statistical Analysis System (SAS – Versão 9.1). A concordância entre os diferentes caldos de enriquecimento utilizados foi determinada pelo coeficiente de associação Kappa.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Exame físico

Os resultados referentes ao exame físico dos animais durante o período experimental estão apresentados nas Tabelas 1 a 6 e nas Figuras 4 a 8. As variáveis comportamento, desidratação clínica e apetite são apresentadas de forma descritiva, em virtude de terem se mantido na normalidade (grau 0) na maioria dos animais dos grupos experimentais.

Não houve óbito em decorrência da salmonelose em nenhum grupo experimental, nem indícios da ocorrência da forma septicêmica da doença, concordando com SMITH (2010), que relata que a infecção por *S. Typhimurium* em bezerros bovinos provoca principalmente lesões entéricas.

S. Typhimurium foi capaz de provocar quadros de enterite aguda e não demonstrou, nas condições deste estudo, ser adaptada à espécie bubalina, uma vez que, de acordo com a definição de WALLIS (2006), sorotipos adaptados a uma determinada espécie animal estão associados à doença sistêmica ou quadro clínico grave, enquanto que os sorotipos não adaptados estão associados às infecções assintomáticas ou gastroenterites autolimitantes. No entanto, deve-se considerar que outros fatores, além da espécie animal e sorotipo de *Salmonella*, estão relacionados com a severidade da infecção, como a virulência da cepa, dose infectante, idade e condição imune do hospedeiro e região geográfica (WALLIS, 2006; JONES et al. 2008).

5.1.1 Frequências respiratória e cardíaca

Durante a auscultação pulmonar, não foram observadas alterações dignas de nota. Os valores médios de frequência respiratória durante o experimento oscilaram pouco e não se constatou diferença estatística entre os momentos avaliados, dentro dos grupos (Tabela 1).

Respiração ofegante pode ser observada em bezerros com diarreia, na tentativa de reduzir a acidose metabólica que se instala (SCOTT et al. 2008). Embora neste estudo não tenha ocorrido variação significativa da frequência respiratória, é possível notar que a maior média registrada no Grupo 2 ocorreu às 96 horas, momento em que ocorreram as maiores alterações no equilíbrio ácido-base nesse grupo (resultados discutidos adiante).

A frequência cardíaca dos bezerros não sofreu variações relevantes ao longo do tempo (Tabela 2), com exceção do Grupo 1, cujo valor no momento anterior à inoculação (0 hora) foi significativamente maior em relação ao Grupo 3. Tal diferença, restrita ao primeiro momento de avaliação, provavelmente esteja relacionada à adaptação dos animais à rotina experimental.

Segundo RADOSTITS et al. (2007), animais com salmonelose podem apresentar aumento da frequência cardíaca, o que não foi observado, de forma significativa, no presente estudo.

Tabela 1. Frequência respiratória (média±desvio padrão; mpm) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	24,4±5,64 Aa	25,4±6,07 Aa	26,4±3,58 Aa
24	23,0±8,31 Aa	25,8±2,83 Aa	21,6±6,07 Aa
48	22,0±7,62 Aa	28,6±5,22 Aa	21,6±4,56 Aa
72	23,4±11,7 Aa	27,0±5,22 Aa	20,8±6,57 Aa
96	22,2±6,42 Aa	32,6±5,22 Aa	24,0±4,00 Aa
120	23,4±5,08 Aa	26,2±2,19 Aa	24,8±5,22 Aa
144	19,4±4,22 Aa	29,4±3,58 Aa	21,6±4,56 Aa
168	21,8±3,35 Aa	27,8±4,90 Aa	20,8±1,79 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Tabela 2. Frequência cardíaca (média±desvio padrão; bpm) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	76,5 ± 5,57Aa	59,2 ± 5,22 ABa	56,4 ± 7,80 Ba
24	68,2 ± 13,7Aab	60,0 ± 7,48 Aa	56,0 ± 4,69 Aa
48	58,6 ± 8,08Aabc	61,6 ± 7,27 Aa	62,4 ± 12,2 Aa
72	53,2 ± 5,36Abc	62,4 ± 11,9 Aa	56,8 ± 8,67 Aa
96	55,4 ± 9,79Abc	62,4 ± 6,69 Aa	57,6 ± 6,07 Aa
120	51,4 ± 5,37Abc	57,6 ± 4,56 Aa	59,6 ± 20,6 Aa
144	48,0 ± 2,45Ac	63,2 ± 9,96 Aa	56,8 ± 15,1 Aa
168	50,2 ± 1,48Abc	55,2 ± 5,93 Aa	53,6 ± 11,5 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

5.1.2 Temperatura retal

Apesar dos valores médios referentes à temperatura retal, aferida nos períodos matutino e vespertino (Tabelas 3 e 4 e Figuras 4 e 5), terem se mantido dentro do intervalo normal para recém-nascidos bubalinos em todos os grupos, observou-se aumento nos valores médios nos grupos inoculados com *S. Typhimurium* (Grupos 2 e 3). Em ambos, as temperaturas atingiram valores máximos às 84 (tarde) e 96 horas (manhã), embora só no Grupo 2 tenha se constatado diferença estatística em relação ao respectivo valor basal (0 hora). No momento seguinte, coincidindo com o dia posterior à aplicação da primeira dose de florfenicol no Grupo 3, estas passaram a decrescer em ambos os grupos, reaproximando-se aos valores basais às 108 e 120 horas no Grupo 2 e declinando significativamente no Grupo 3, às 132 e 144 horas. No Grupo 1, as temperaturas não variaram de forma significativa, embora valores mínimos foram atingidos às 72 e 96 horas. Por outro lado, no mesmo grupo, os valores se mantiveram estáveis durante o período vespertino.

Quando comparados grupos, no período matutino, a elevação da temperatura retal nos animais inoculados (Grupos 2 e 3) e redução nos animais do grupo controle (Grupo 1) provocou diferenças estatísticas significativas entre eles, às 72 e 96 horas. No período vespertino, apenas o Grupo 2 diferiu significativamente do Grupo 1, das 60

às 132 horas. Já quando comparado com o grupo tratado com florfenicol (Grupo 3), o Grupo 2 apresentou médias significativamente maiores às 60, 132 e 156 horas.

A maior temperatura registrada foi de 40,0° C, em um animal do Grupo 2 às 72 horas, e a menor foi de 35,8° C, em um animal do Grupo 3, às 144 horas.

A interpretação da temperatura retal é dificultada em búfalos, uma vez que esta é bastante influenciada pelas condições ambientais, pois, devido à escassez de glândulas sudoríparas, a espécie tem dificuldade de termorregulação (DAS et al. 1999). Este fato explica as maiores médias encontradas no período vespertino em relação ao matutino.

Apesar de não terem sido registrados valores superiores aos considerados fisiológicos para búfalos desta faixa etária, os resultados mostram que a bactéria inoculada foi capaz de induzir quadro infeccioso e provocar aumento da temperatura corporal durante o período avaliado. Como são bactérias gram-negativas, a salmonelas possuem LPS, também denominados endotoxinas, que são extremamente ativos biologicamente, desencadeando uma cascata imunológica que conduz, entre outros efeitos, à febre (SMITH, 2010).

A falta do tratamento com florfenicol nos animais do Grupo 2 não impediu que os valores começassem a baixar ao mesmo tempo que no grupo tratado (Grupo 3). Porém, no período vespertino, a redução da temperatura após início do tratamento no Grupo 3 foi maior que no Grupo 2, indicando um possível efeito do antibiótico sobre esta variável, através da redução da carga bacteriana e, conseqüentemente, do quadro inflamatório.

De forma semelhante aos resultados obtidos neste estudo, ÁVILA (2009) relatou aumento da temperatura retal em bovinos neonatos infectados com a mesma cepa de *S. Typhimurium*. Entretanto, tal aumento teve menor magnitude nos animais que receberam tratamento à base de florfenicol, diferente do resultado obtido nos bezerras bubalinos. SANTANA (2012) constatou temperaturas de até 41,4°C em búfalos infectados experimentalmente com *S. Dublin*, com menor tempo de hipertermia nos animais quando tratados com florfenicol.

Tabela 3. Temperatura retal (média±desvio padrão; °C), no período **matutino**, de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	37,7±0,32 Aa	37,8±0,49 Aab	37,6±0,30 Aab
24	37,2±0,55 Aa	37,0±0,74 Ab	37,7±0,48 Aab
48	37,0±0,35 Aa	37,2±0,85 Aab	37,5±0,68 Aab
72	36,6±0,48 Ba	37,9±1,24 Aab	37,9±0,83 Aab
96	36,6±0,49 Ba	38,2±0,30 Aa	38,2±0,70 Aa
120	36,8±0,15 Aa	37,4±0,57 Aab	37,2±0,70 Aab
144	37,1±0,36 Aa	37,5±0,39 Aab	37,0±1,04 Ab
168	37,2±0,32 Aa	37,2±0,55 Aab	37,3±0,58 Aab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 4. Temperatura retal (média±desvio padrão; °C), no período **vespertino**, de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) no dia da inoculação (12 horas) e nas 36, 60, 84, 108, 132 e 156 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
12	38,6±0,32 Aa	38,5±0,27 Ab	38,6±0,23 Aab
36	38,4±0,26 Aa	38,8±0,26 Aab	38,4±0,18 Aab
60	38,2±0,30 Ba	39,0±0,42 Aab	38,3±0,21 Bab
84	38,3±0,29 Ba	39,4±0,26 Aa	38,9±0,58 ABa
108	38,2±0,18 Ba	39,2±0,25 Aab	38,5±0,71 ABab
132	38,2±0,18 Ba	38,9±0,38 Aab	38,0±0,66 Bb
156	38,4±0,23 ABa	38,6±0,39 Ab	37,9±0,63 Bb

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

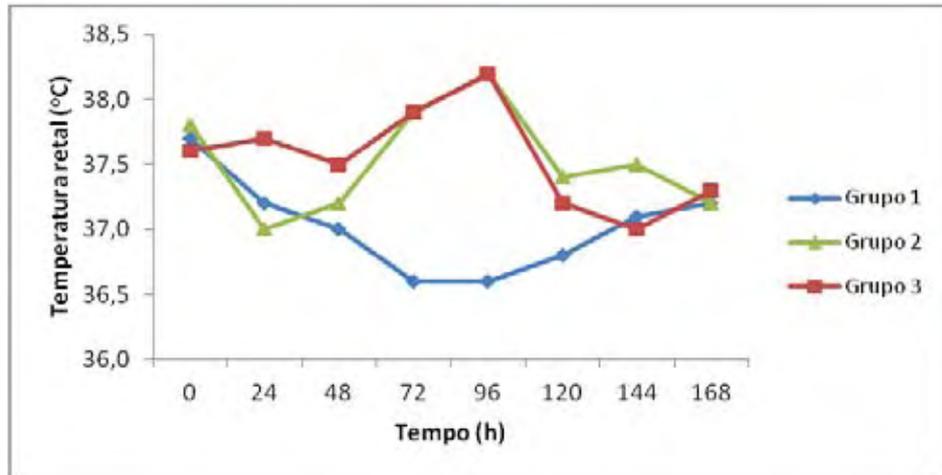


Figura 4. Variação dos valores médios da **temperatura retal** (°C), no período **matutino**, de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

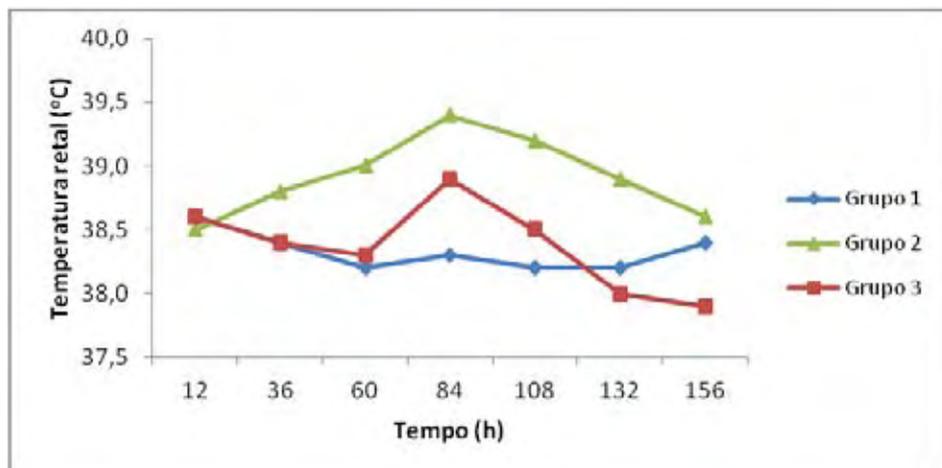


Figura 5. Variação dos valores médios da **temperatura retal** (°C), no período **vespertino**, de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) no dia da inoculação (12 horas) e nas 36, 60, 84, 108, 132 e 156 horas seguintes.

5.1.3 Consistência das fezes

Os episódios de diarreia nos grupos infectados (Grupos 2 e 3) iniciaram-se 24 a 168 horas após a inoculação (Tabelas 5 e 6 e Figura 6). O tempo mediano de incubação foi aproximadamente 3 e 4 dias nos Grupos 2 e 3, respectivamente. Apenas um animal do Grupo 3 não manifestou diarreia durante o período experimental, apesar da eliminação bacteriana nas fezes ter sido constatada pelo exame bacteriológico. Todos os demais bezerros infectados chegaram a apresentar diarreia de grau 2, de coloração amarelada (Figura 7), com presença de muco e/ou sangue (Figura 8). Todos os dez animais infectados apresentaram ao menos um episódio de muco nas fezes, ocorrendo o mesmo em relação à presença de sangue. Em alguns momentos, notou-se a presença de fragmentos de mucosa intestinal nas fezes, assim como a manifestação de tenesmo em alguns animais. A cura clínica da diarreia ocorreu espontaneamente entre 8 e 15 dias após a infecção experimental nos animais do Grupo 2 e entre 9 e 18 dias nos animais do grupo que recebeu tratamento a base de florfenicol (Grupo 3). De maneira geral, não foi notada melhora na consistência das fezes após administração do antibiótico, sendo que em ambos os grupos infectados a duração mediana da diarreia foi de 8 dias. Além disso, um animal do Grupo 3 manifestou o primeiro quadro diarreico grave às 168 horas, após ter recebido a segunda dose do antimicrobiano.

Os animais do grupo controle não apresentaram diarreia característica de salmonelose. A consistência das fezes destes bezerros variou de normal a diarreia discreta, frequentemente observada nos animais lactentes.

De acordo com RADOSTITS et al. (2007), na enterite aguda observada na salmonelose, há diarreia severa e, ocasionalmente, tenesmo. As fezes contêm muco e, às vezes, sangue, fibrina e fragmentos de mucosa intestinal.

Os resultados obtidos no presente estudo são semelhantes aos descritos por SANTANA (2012) após infecção de bubalinos neonatos com 10^8 UFC de *S. Dublin*. Este autor observou início dos quadros de diarreia 24 a 96 horas após a inoculação, com cura espontânea em 9 a 11 dias pós-infecção. O mesmo também não obteve melhora após instituição do tratamento com florfenicol, que, ao contrário, agravou e prolongou o

quadro de diarreia nos animais. Por outro lado, SILVA (2007) e ÁVILA (2009) observaram diminuição do tempo de diarreia em bezerros bovinos com salmonelose tratados com o mesmo antibiótico.

Tabela 5. Período de incubação e duração da diarreia, em dias, em bezerros bubalinos infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3).

	Grupo 2	Grupo 3
Período de incubação	3 a 4,5	1 a 7
Média	3,7	3,9
Mediana	3,5	3,8
Duração da diarreia	4 a 11,5	5,5 a 17
Média	7,4	9,8
Mediana	8,0	8,3

Tabela 6. Escore da consistência das fezes (média±desvio padrão) e frequência de animais diarreicos (F) entre bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos					
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
		F		F		F
0	0,4±0,5 ^{Aa}	2/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5
12	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5
24	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,2±0,4 ^{Aa}	1/5
36	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,2±0,4 ^{Aa}	1/5
48	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5
60	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,4±0,9 ^{Aa}	1/5
72	0,4±0,5 ^{Aa}	2/5	0,4±0,9 ^{Aa}	1/5	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5
84	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	0,8±1,1 ^{Aa}	2/5	0,6±0,9 ^{Aa}	2/5
96	0,2±0,4 ^{Aa}	1/5	1,2±0,8 ^{Aa}	4/5	0,4±0,9 ^{Aa}	1/5
108	0,4±0,9 ^{Aa}	1/5	1,2±1,1 ^{Aa}	3/5	0,2±0,4 ^{Aa}	1/5
120	0,2±0,4 ^{Aa}	1/5	1,6±0,5 ^{Aa}	5/5	1,2±1,1 ^{Aa}	3/5
132	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	1,4±0,9 ^{Aa}	4/5	1,0±1,0 ^{Aa}	3/5
144	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	1,4±0,9 ^{Ba}	4/5	0,6±0,5 ^{ABa}	3/5
156	0,0±0,0 ^{Aa}	0/5	1,0±1,0 ^{Aa}	3/5	0,4±0,9 ^{Aa}	1/5
168	0,2±0,4 ^{Aa}	1/5	1,4±0,9 ^{Aa}	4/5	1,2±0,8 ^{Aa}	4/5

0=normal; 1=diarreia discreta; 2=diarreia moderada a grave.

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Dunn ($P>0,05$).

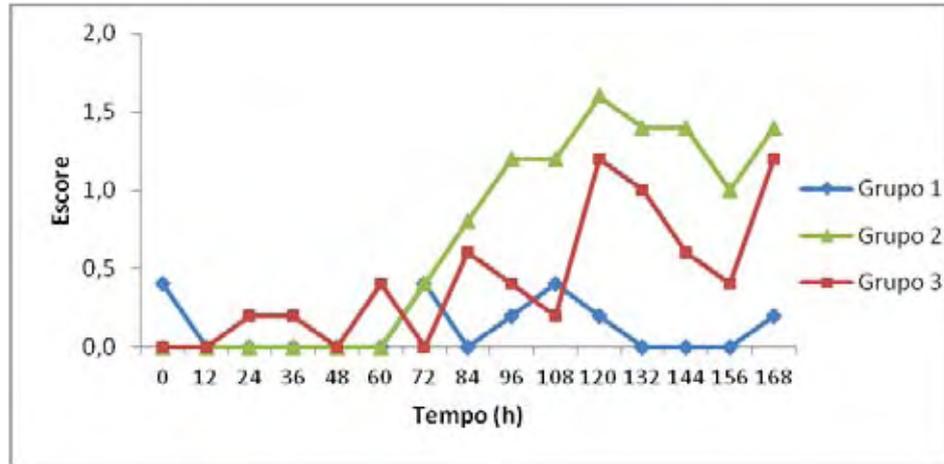


Figura 6. Variação dos valores médios do escore da **consistência das fezes** de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156 e 168 horas seguintes.



Figura 7. Características das fezes (grau 2) de bezerro bubalino infectado com 10^9 UFC de *S. Typhimurium*.



Figura 8. Características das fezes de bezerro bubalino infectado com 10^9 UFC de *S. Typhimurium*, com presença de muco e sangue.

5.1.4 Comportamento, apetite e grau de desidratação

No que concerne ao comportamento, apenas um animal do Grupo 3 tornou-se apático ao sexto dia pós-infecção. Alguns bezerros dos grupos infectados manifestaram dor à palpação abdominal. Já o apetite, verificado durante o fornecimento do leite, apresentou-se diminuído apenas em um bezerro do Grupo 2, no terceiro e no quarto dia pós-infecção, e tornou-se ausente no mesmo animal do Grupo 3 que apresentou apatia, no segundo e no sexto dia após a inoculação. Apatia e anorexia são achados comuns em animais com salmonelose (JONES et al. 2008) e resultados similares aos obtidos foram descritos por SANTANA (2012) em bezerros bubalinos, após infecção experimental com *S. Dublin*.

Quanto à desidratação clínica, em diferentes momentos, nos três grupos experimentais, observou-se desidratação leve (grau 1) em alguns animais. No único indivíduo do grupo controle (Grupo 1) que apresentou esse quadro, a desidratação inicial, observada à 0 e às 24 horas, se reverteu ao longo do período experimental. Já nos animais dos grupos infectados, esta se instalou após o aparecimento do quadro diarreico e/ou de diminuição do apetite. A desidratação leve nesses grupos foi constatada em um animal do Grupo 2, ao sexto e sétimo dias após a infecção, e em dois bezerros do Grupo 3, ao terceiro dia pós-inoculação em um deles e ao sétimo dia em ambos. Apesar da desidratação ser um dos achados clínicos mais comuns em animais diarreicos, devido perda de água nas fezes (SCOTT et al. 2008), nenhum animal do experimento tornou-se gravemente desidratado, mesmo tendo apresentado

diarreia severa. O fato provavelmente se deva à reposição hídrica adequada, uma vez que os animais ingeriam grande quantidade de água voluntariamente. Os resultados coincidem com os relatados por SANTANA (2012).

5.2 Hemogasometria e eletrólitos sanguíneos

Os resultados obtidos na avaliação das variáveis hemogasométricas e de eletrólitos no sangue venoso dos bezerros bubalinos são apresentados nas Tabelas 7 a 18 e Figuras 9 a 20.

5.2.1 pH sanguíneo

O pH sanguíneo dos indivíduos dos Grupos 1 e 3 não variou de forma significativa durante os sete dias avaliados (Tabela 7 e Figura 9). Já no Grupo 2, notou-se aumento relevante do pH às 24 horas, seguido de acentuado declínio às 48 horas pós-infecção. Às 72 horas, tais valores já haviam retornado à normalidade.

Durante todo o estudo, os valores médios de pH registrados nos três grupos experimentais estiveram próximos aos encontrados por FAGLIARI et al. (1998) em bovinos e búfalos hígidos do nascimento aos 45 dias de vida.

A acidose metabólica é uma grave consequência da diarreia dos tipos inflamatório, secretório e de má absorção/má digestão causada por infecções agudas por salmonela (REBHUN, 2000). Inúmeros fatores contribuem para o seu desenvolvimento. Entre eles, a perda de íons bicarbonato nas fezes e absorção de ácidos produzidos pela fermentação microbiana da lactose no intestino grosso. Somam-se a isso, a maior produção de lactato pelo metabolismo anaeróbico e a redução da excreção renal de íons hidrogênio, consequentes da redução da perfusão tecidual e renal provocadas pela desidratação (SCOTT et al. 2008). Entretanto, no presente estudo, tais mecanismos não ocorreram com gravidade suficiente para provocar queda significativa do pH sanguíneo nos animais, embora estes tenham apresentado quadros de diarreia grave. Possivelmente, a adequada ingestão hídrica demonstrada pelos bezerros tenha contribuído favoravelmente à manutenção do equilíbrio ácido-base, ao

compensar a perda de fluido extracelular, propiciando, assim, a manutenção da pressão arterial e da resposta compensatória renal.

SANTANA (2012), estudando bezerros bubalinos infectados experimentalmente com *S. Dublin*, tratados ou não com florfenicol, tampouco encontrou variações significativas no pH sanguíneo dos animais. O mesmo relato é feito por ÁVILA (2009) em bezerros bovinos infectados com *S. Typhimurium*. Já num estudo envolvendo casos naturais de diarreia em bezerras bovinas, FREITAS (2009) relata redução significativa do pH sanguíneo ao longo do período de patência da enfermidade.

Tabela 7. pH sanguíneo venoso (média±desvio padrão) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	7,35±0,02 Aa	7,36 ±0,02 Abc	7,36 ±0,02 Aa
24	7,38±0,01 ABa	7,43 ±0,02 Aa	7,36 ±0,04 Ba
48	7,39±0,01 Aa	7,34 ±0,08 Ac	7,36 ±0,03 Aa
72	7,37±0,03 Aa	7,40 ±0,02 Aab	7,36 ±0,05 Aa
96	7,36±0,01 Aa	7,38 ±0,03 Abc	7,37 ±0,03 Aa
120	7,36±0,03 Aa	7,38 ±0,02 Abc	7,35 ±0,04 Aa
144	7,37±0,03 Aa	7,38 ±0,01 Aabc	7,36 ±0,02 Aa
168	7,37±0,03 Aa	7,36 ±0,02 Abc	7,33 ±0,04 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

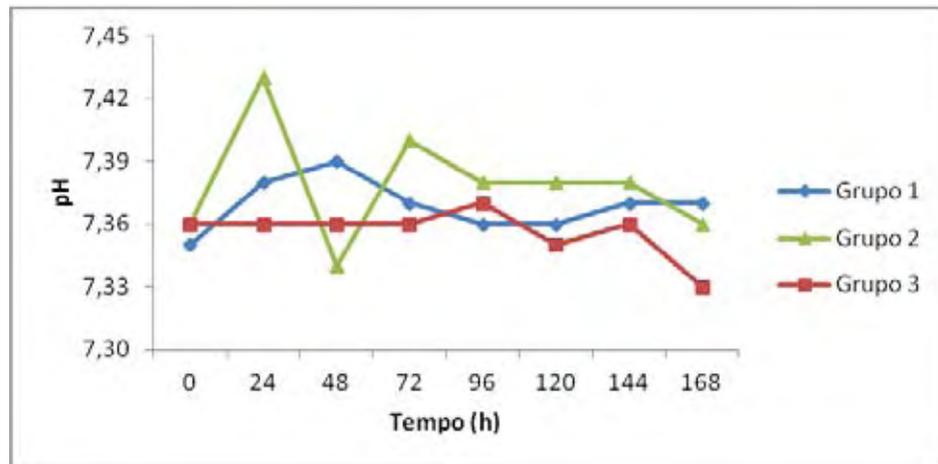


Figura 9. Variação dos valores médios do **pH sanguíneo** venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.2.2 Total de dióxido de carbono (tCO_2), concentração de bicarbonato (HCO_3^-) sanguíneo e excesso de base (EB)

O total de dióxido de carbono (tCO_2) indica o conteúdo total de CO_2 no plasma, constituído em aproximadamente 95% pelo HCO_3^- (CARLSON, 2010). Os valores médios deste parâmetro no grupo controle (Grupo 1) mantiveram-se estáveis durante o período experimental (Tabela 8 e Figura 10). Já no Grupo 2, os valores declinaram a partir das 48 horas, atingindo valor mínimo às 96 horas, seguido de aumento às 120 horas e nova queda às 144 horas. Da mesma forma, no Grupo 3, os valores diminuíram a partir das 72 horas, com menor valor às 96 horas, seguido de discreto aumento, que se manteve até o final do período experimental. Às 96 horas pós-infecção, os valores médios de tCO_2 dos grupos inoculados (Grupos 2 e 3) foram significativamente menores que o do grupo controle (Grupo 1).

Enquanto nos animais saudáveis (Grupo 1) a concentração sanguínea de bicarbonato não variou de forma significativa, nos animais infectados não tratados com o antimicrobiano (Grupo 2), esta declinou a partir das 72 horas, permanecendo baixa até o final do período de avaliação (Tabela 9 e Figura 11). Já no grupo tratado com florfenicol (Grupo 3), apesar de não ser constatada diferença estatística ao longo do

tempo, também notou-se queda entre 48 e 96 horas, com posterior elevação. A perda fecal de íons bicarbonato, constituinte do principal sistema tampão do compartimento extracelular, é a principal causa de acidose em animais diarreicos (FETTMAN, 2007; SCOTT et al. 2008).

Em relação ao excesso de base (EB), que indica o desvio do bicarbonato em relação aos valores considerados normais (CARLSON, 2010), houve variação significativa apenas no Grupo 2, no qual ocorreu aumento pontual marcante no excesso de base às 24 horas (Tabela 10 e Figura 12). Nos demais momentos, ocorreu oscilação entre excesso e déficit de base, constatando-se o menor valor às 96 horas. No Grupo 1, os valores variaram entre excesso e déficit de base, enquanto no Grupo 3 houve predominância de déficit de base ao longo do experimento. Segundo LISBÔA et al. (2002), parece razoável considerar fisiológico, para bezerros bovinos, um valor de EB entre -1,5 e +7,8 mMol/L. Valores negativos inferiores a esse indicariam deficiência de base, caracterizando um quadro de acidose metabólica, enquanto valores positivos superiores indicariam alcalose metabólica (FETTMAN, 2007). Considerando-se os bezerros bubalinos, o valor médio esteve abaixo desse intervalo às 96 horas pós-infecção, no Grupo 2.

Devido ao grau de diarreia apresentado pelos animais que receberam inóculo contendo *S. Typhimurium* (Grupos 2 e 3), era de se esperar que os valores de $t\text{CO}_2$, HCO_3^- e EB declinassem durante o período de diarreia, o que ocorreu em relação às três variáveis entre 24 e 96 horas, no Grupo 2, e entre 48 e 96 horas no Grupo 3. As aplicações de florfenicol não pareceram interferir no curso das alterações desses parâmetros. Semelhantemente, FREITAS (2009) registrou redução significativa das concentrações de HCO_3^- , $t\text{CO}_2$ e do EB à medida que os episódios de diarreia se estendiam em bezerras bovinas. SANTANA (2012) verificou déficit de base em bezerros bubalinos infectados com *S. Dublin*, sendo este mais expressivo nos animais que receberam tratamento com florfenicol.

Tabela 8. Total de dióxido de carbono (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	22,5±0,93 Aa	23,8±2,17 Aab	23,0±1,90 Aab
24	22,8±1,31 Aa	25,0±1,75 Aa	22,7±1,51 Aab
48	23,5±0,97 Aa	22,3±2,40 Abc	23,9±1,79 Aa
72	23,0±1,03 Aa	21,9±1,88 Abc	22,4±2,26 Aab
96	23,9±0,73 Aa	20,7±0,75 Bc	21,5±1,80 Bb
120	23,4±0,72 Aa	22,5±1,66 Abc	22,3±1,39 Aab
144	23,1±1,16 Aa	21,5±0,84 Ac	22,6±1,28 Aab
168	22,8±1,41 Aa	21,9±0,88 Abc	22,8±2,36 Aab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

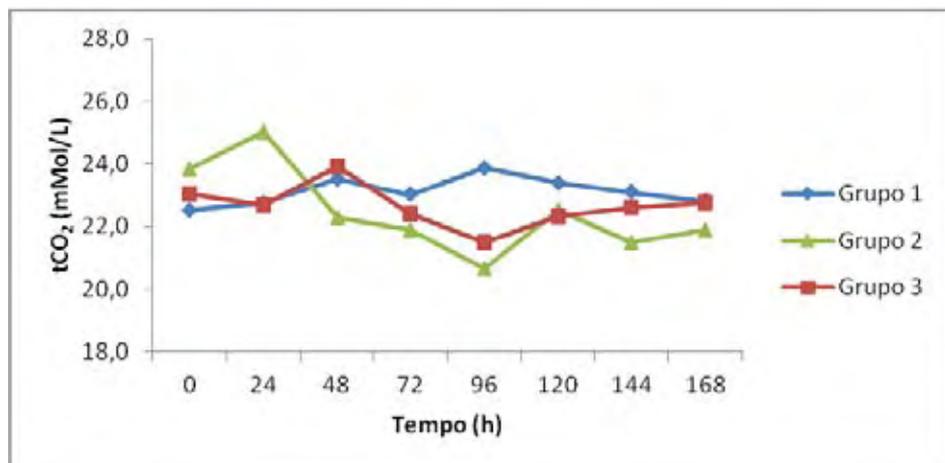


Figura 10. Variação dos valores médios do **total de dióxido de carbono** (mMol/L) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 9. Concentração de **bicarbonato** (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	24,9±1,69 Aa	27,0±2,17 Aab	26,1±1,86 Aa
24	27,2±4,83 Aa	28,6±1,77 Aa	25,7±1,76 Aa
48	27,2±4,83 Aa	25,4±2,77 Aab	26,9±1,79 Aa
72	25,7±1,05 Aa	25,0±2,08 Ab	25,2±2,31 Aa
96	26,6±0,70 Aa	23,5±1,02 Ab	24,1±1,93 Aa
120	26,2±0,81 Aa	25,5±1,63 Aab	24,9±1,35 Aa
144	25,5±0,75 Aa	24,3±0,87 Ab	25,3±1,31 Aa
168	25,6±1,17 Aa	24,5±0,88 Ab	25,4±2,42 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

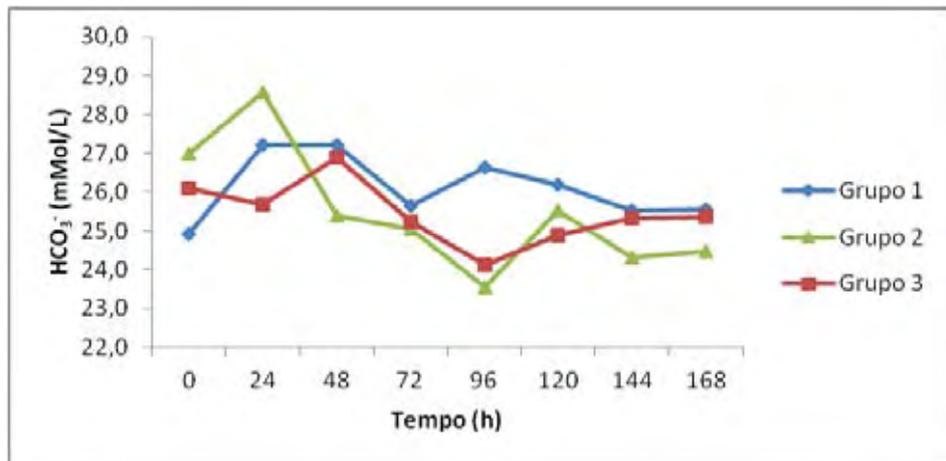


Figura 11. Variação dos valores médios da concentração de **bicarbonato** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 10. Excesso de base (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	-1,00±0,92Aa	0,74±2,01Aab	0,16±1,85Aa
24	0,00±0,89Aa	3,56±1,19Bb	-0,28±1,95Aa
48	0,80±0,97Aa	-0,88±3,85Aab	0,61±2,06Aa
72	-0,04±0,86Aa	0,10±1,87Aab	-0,74±2,67Aa
96	0,54±0,57Aa	-1,58±0,90Aa	-1,34±2,07Aa
120	0,10±1,24Aa	0,15±1,32Aab	-1,14±1,69Aa
144	-0,12±1,02Aa	-0,82±0,99Aab	-0,50±1,38Aa
168	-0,02±1,53Aa	-1,12±1,06Aa	-1,04±2,73Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Dunn ($P>0,05$).

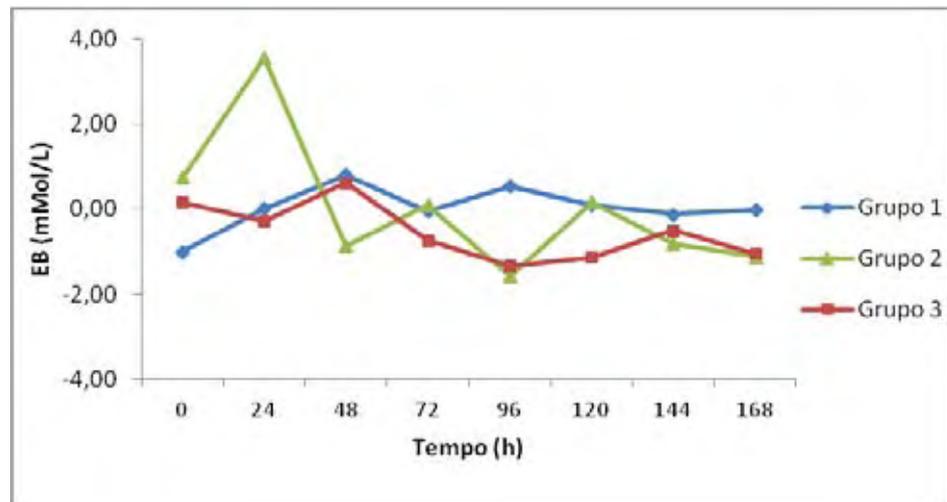


Figura 12. Variação dos valores médios do **excesso de base** (EB) (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.2.3 Pressões parciais de dióxido de carbono (pCO_2) e oxigênio (pO_2) e saturação de oxigênio (SO_2)

A pressão parcial de dióxido de carbono manteve-se estável no Grupo 1 (Tabela 11 e Figura 13). No Grupo 2, houve significativo declínio a partir de 72 horas após a infecção, mantendo-se valores menores que o basal (0 hora) até o final do período

experimental. No Grupo 3, verificou-se o mesmo comportamento, com menor média às 96 horas e rápida recuperação dos valores iniciais nos momentos posteriores.

Apesar das oscilações registradas nos valores médios da pressão parcial de oxigênio dos Grupos 2 e 3, não obteve-se diferença estatística significativa entre os momentos avaliados nem entre os três grupos experimentais (Tabela 12 e Figura 14). No Grupo 3, pôde-se notar queda inicial, com menor valor às 48 horas, seguido de aumento, com valor máximo às 96 horas. As médias do Grupo 1 mantiveram-se estáveis.

Nos resultados relativos à saturação de oxigênio, observou-se que não houve variação significativa nos três grupos experimentais, durante o período avaliado (Tabela 13 e Figura 15). Houve diferença entre grupos às 120 e 168 horas, decorrente da discreta diminuição dos valores do Grupo 2 e aumento dos do Grupo 1.

Um dos mecanismos de compensação da acidose metabólica é o aumento da ventilação pulmonar, que promove a redução da $p\text{CO}_2$, porém limitada a um curto período de tempo (CARLSON, 2010). A hiperventilação compensatória determina também melhor oxigenação sanguínea, provocando aumento da $p\text{O}_2$ e da SO_2 . Isso explicaria os resultados obtidos nos Grupos 2 e 3, onde os quadros diarreicos podem ter causado essa resposta. É possível afirmar que ocorreu, às 96 horas, uma acidose metabólica compensada através da redução da $p\text{CO}_2$ nesses grupos. Assim, foi lançado mão do primeiro mecanismo de controle da acidose metabólica, o aumento da frequência respiratória, como foi descrito anteriormente no Grupo 2, apesar de não observado estatisticamente.

A infecção por *S. Dublin* não provocou alterações significativas da $p\text{CO}_2$ no sangue de bubalinos neonatos (SANTANA, 2012). ÁVILA (2009) não constatou variação significativa na $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$ e SO_2 durante a patência da diarreia induzida experimentalmente com *S. Typhimurium* em bezerras bovinas, enquanto FREITAS (2009) verificaram redução significativa da $p\text{CO}_2$, restrita ao primeiro dia de episódio de diarreia em bezerras.

Tabela 11. Pressão parcial de dióxido de carbono (média±desvio padrão; mmHg) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	45,9±4,87 Aa	49,0±3,14 Aa	46,8±2,76 Aab
24	43,2±3,13 Aa	44,6±4,39 Aabc	47,0±4,31 Aab
48	44,5±2,25 Aa	47,7±4,73 Aab	49,1±0,82 Aa
72	45,8±4,53 Aa	41,7±3,19 Abc	46,2±4,58 Aab
96	48,3±2,36 Aa	41,2±3,40 Bc	43,1±3,20 Bb
120	47,9±1,62 Aa	44,2±4,09 Aabc	46,5±3,48 Aab
144	45,6±2,70 Aa	41,7±0,51 Ac	46,0±2,03 Aab
168	44,9±1,00 Aa	44,1±2,48 Aabc	48,7±2,52 Aab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

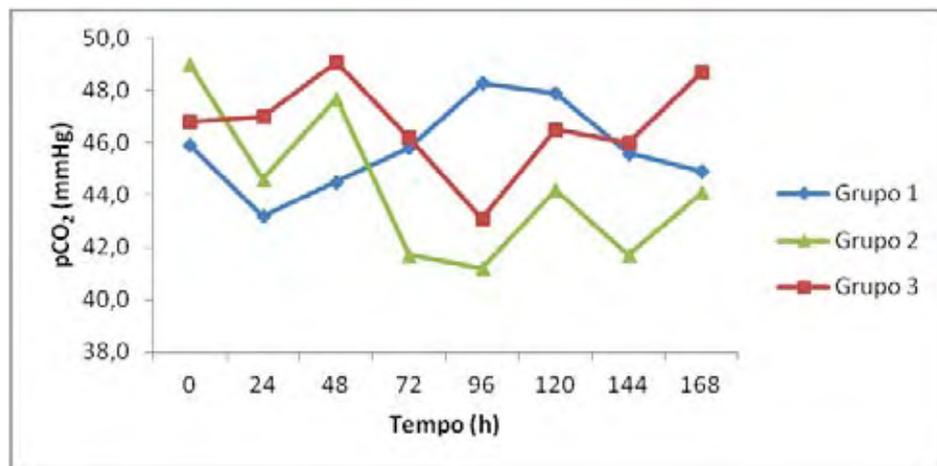


Figura 13. Variação dos valores médios da **pressão parcial de dióxido de carbono** (mmHg) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 12. Pressão parcial de oxigênio (média±desvio padrão; mmHg) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	37,4±0,85 Aa	33,6±7,96 Aa	39,0±2,41 Aa
24	36,0±1,85 Aa	31,9±5,40 Aa	36,3±4,85 Aa
48	38,0±3,82 Aa	35,5±8,25 Aa	34,7±2,63 Aa
72	37,8±6,53 Aa	35,9±5,39 Aa	37,0±4,79 Aa
96	38,7±2,99 Aa	35,6±4,29 Aa	41,4±4,86 Aa
120	38,5±6,14 Aa	32,2±7,62 Aa	37,2±6,62 Aa
144	38,9±5,52 Aa	33,8±6,10 Aa	39,0±5,91 Aa
168	37,7±6,03 Aa	35,0±3,91 Aa	40,2±2,10 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

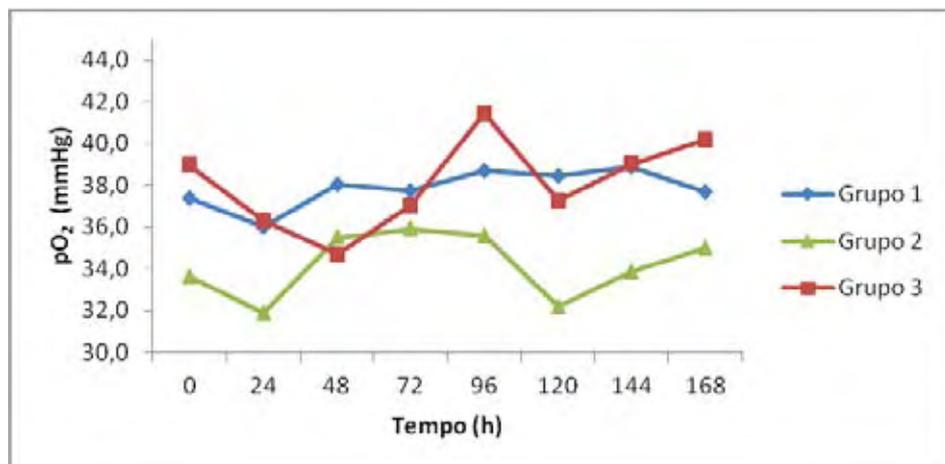


Figura 14. Variação dos valores médios da **pressão parcial de oxigênio** (mmHg) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 13. Saturação de oxigênio (média±desvio padrão; %) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	56,6±3,27 Aa	54,0±8,99 Aa	58,2±5,75 Aa
24	58,4±5,17 Aa	60,6±8,14 Aa	60,9±5,41 Aa
48	62,2±6,10 Aa	56,4±5,71 Aa	59,3±5,92 Aa
72	60,0±8,45 Aa	58,6±7,97 Aa	59,6±5,40 Aa
96	61,2±5,84 Aa	62,8±4,79 Aa	61,8±7,35 Aa
120	66,6±2,76 Aa	52,4±12,4 Ba	57,5±7,33 ABa
144	63,1±8,13 Aa	57,3±6,15 Aa	60,0±8,56 Aa
168	64,8±4,20 Aa	54,6±2,95 Ba	59,0±3,18 ABa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

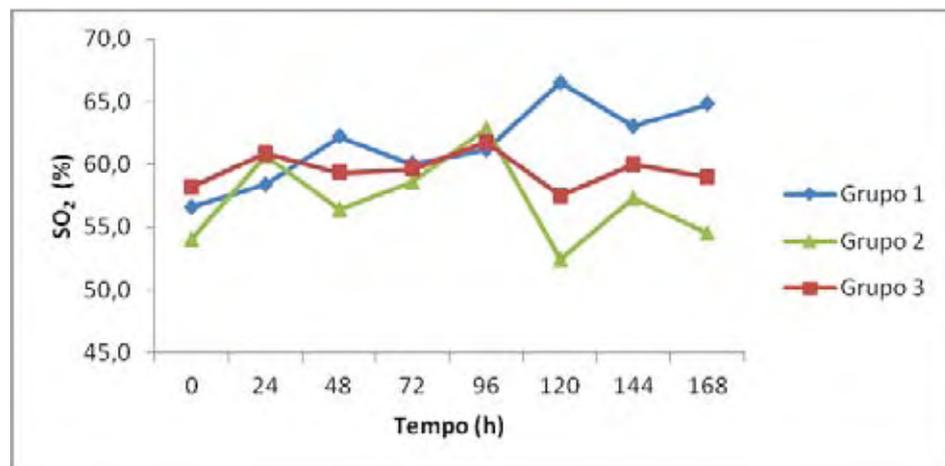


Figura 15. Variação dos valores médios da **saturação de oxigênio** (%) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.2.4 Anion gap

Quanto ao *anion gap*, no Grupo 1, não houve variação significativa entre os momentos avaliados (Tabela 14 e Figura 16). No Grupo 2, observou-se aumento do *anion gap* entre as 24 e 168 horas, sendo o valor máximo atingido às 96 horas. No Grupo 3, ocorreu queda significativa dos valores entre 0 e 48 horas, seguida de aumento, reaproximando-se aos valores basais às 72 horas, e novo declínio às 144 horas.

Segundo CARLSON (2010), o *anion gap* pode ser uma ferramenta útil para tipificar os fatores causais do desequilíbrio ácido-base e atuar como meio de orientação prognóstica em animais com transtornos digestórios graves. Durante a acidose metabólica provocada pelas diarreias, o *anion gap* pode estar aumentado, devido à perda do bicarbonato e acúmulo de ácidos orgânicos. O mesmo pode permanecer inalterado, quando a queda da concentração de bicarbonato é compensada pelo aumento da de cloretos para manter a eletroneutralidade, resultando em acidose hiperclorêmica (BEREND et al. 2012). Por isso, ocorreu aumento do *anion gap* no Grupo 2 durante o mesmo período em que foram registradas as menores concentrações de bicarbonato e de cloretos (discutido nos respectivos itens), enquanto no Grupo 3 a perda de bicarbonato não foi suficiente para promover elevação do *anion gap* acima do valor basal, além de ter sido acompanhada de aumento da concentração de cloretos.

Tabela 14. *Anion gap* (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	17,3±1,96 Aa	17,5±2,64 Aabc	19,0±1,44 Aa
24	16,6±0,74 Aa	15,6±1,73 Ac	17,4±2,10 Aab
48	15,7±1,93 Aa	16,2±2,44 Abc	14,9±0,99 Ab
72	15,6±1,69 Ba	19,0±2,40 Aab	16,3±1,85 ABab
96	15,3±1,06 Ba	20,0±0,99 Aa	17,4±1,56 ABab
120	15,4±1,73 Aa	17,7±1,05 Aabc	17,7±0,85 Aab
144	15,2±1,72 ABa	18,2±1,59 Aabc	15,0±1,46 Bb
168	14,8±2,21 Ba	18,6±0,60 Aabc	15,3±0,72 Bb

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

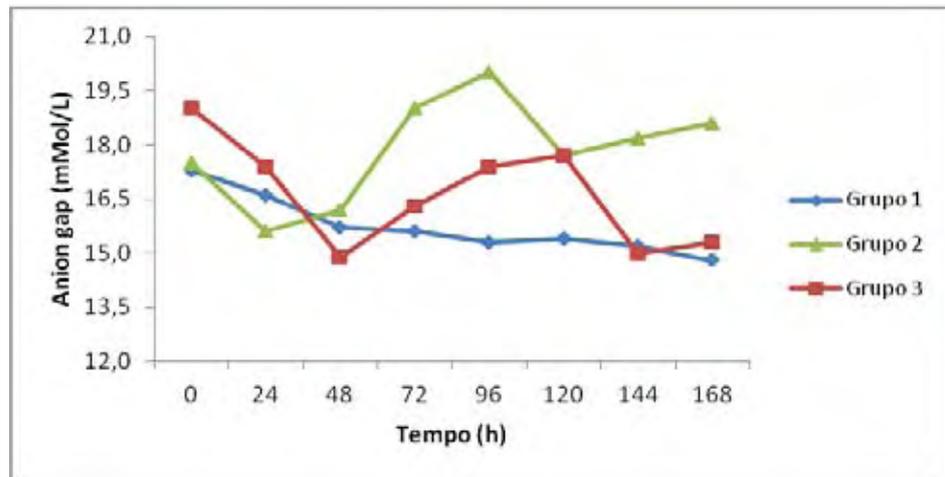


Figura 16. Variação dos valores médios do **anion gap** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.2.5 Concentração sanguínea de sódio (Na^+)

No que concerne a concentração sanguínea de sódio, ocorreu queda dos valores médios às 120 horas no Grupo 1, embora não houve nenhuma diferença estatística entre momentos nem entre grupos (Tabela 15 e Figura 17). No grupo infectado sem tratamento (Grupo 2), notou-se diminuição da concentração após a inoculação, com menor valor registrado às 120 horas. Já no grupo que recebeu o antibiótico (Grupo 3), os valores mantiveram certa estabilidade durante todo o tempo de avaliação.

SANTOS et al. (2002a) e SANTANA (2012) também verificaram redução não significativa da concentração de sódio após inoculação oral por *Salmonella* spp em bovinos e bubalinos, respectivamente.

As alterações do equilíbrio hídrico e não as do metabolismo de sódio são as principais responsáveis por modificações na concentração sanguínea deste íon, uma vez que o organismo procura sempre manter a osmolalidade. A desidratação isotônica, produzida por perda equilibrada de água e cátions Na^+ e K^+ , ocorre na fase inicial das diarreias agudas e é caracterizada por concentração sérica de sódio normal. Já os casos subagudos e crônicos provocam uma desidratação hipotônica, indicada pela

hiponatremia, decorrente da perda excessiva de sódio nas fezes combinada com a ativação de mecanismos de retenção de água (FETTMAN, 2007; CARLSON, 2010).

Tabela 15. Concentração de **sódio** (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	143±3,04 Aa	145 ± 2,40 Aa	140 ± 3,37 Aa
24	143±2,00 Aa	144 ± 2,42 Aa	143 ± 2,61 Aa
48	142±3,24 Aa	143 ± 0,85 Aa	141 ± 2,30 Aa
72	144±2,15 Aa	142 ± 2,09 Aa	141 ± 2,65 Aa
96	145±13,0 Aa	142 ± 1,94 Aa	142 ± 3,38 Aa
120	139±1,30 Aa	140 ± 0,97 Aa	143 ± 2,84 Aa
144	139±2,53 Aa	142 ± 1,34 Aa	143 ± 1,33 Aa
168	140±3,33 Aa	143 ± 2,35 Aa	143 ± 2,34 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

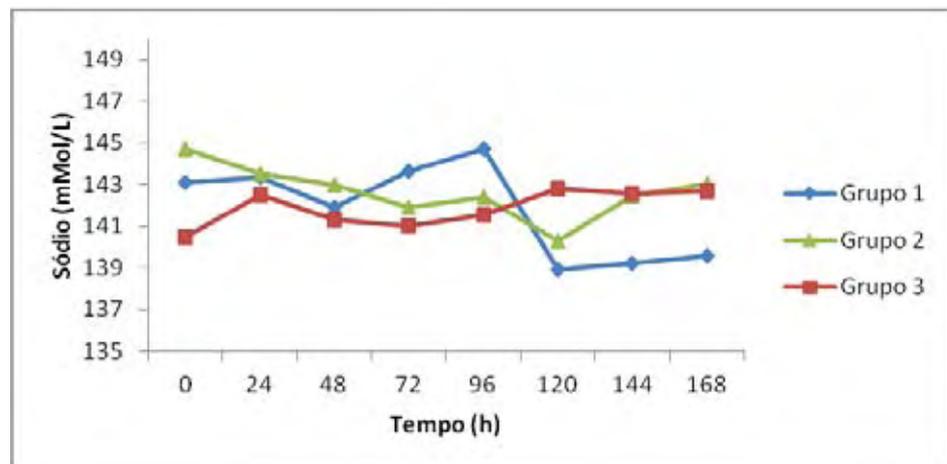


Figura 17. Variação dos valores médios da concentração de **sódio** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.2.6 Concentração sanguínea de potássio (K⁺)

Durante os sete dias de avaliação, a concentração sanguínea de potássio manteve-se estável no grupo sadio e no grupo que recebeu tratamento com florfenicol (Grupos 1 e 3, respectivamente) (Tabela 16 e Figura 18). No Grupo 2, houve aumento pontual significativo no valor médio às 24 horas e discreto declínio nos últimos dois dias do período experimental.

A concentração de potássio durante o curso da salmonelose pode variar de alta a baixa, dependendo da severidade e duração da diarreia e das subseqüentes perdas hídricas (REBHUN, 2010). Isso porque, na ocorrência de acidose metabólica, o aumento da concentração intracelular de íons hidrogênio força o movimento de íons potássio para o meio extracelular no intuito de manter a eletroneutralidade, provocando hipercalemia. No entanto, também há perda de potássio pelas fezes, o que pode tornar a calemia normal ou reduzida (SCOTT et al. 2008).

Assim, no Grupo 2, durante a fase aguda da salmonelose, houve predominância da perda fecal desse cátion. Já nos animais do Grupo 3, essa perda não foi constatada, considerando que tampouco desenvolveram acidose metabólica. De forma diferente, FREITAS (2009) observou que 79% de bezerras diarreicas naturalmente acometidas apresentaram hipercalemia, com maior frequência ao terceiro dia de patência da diarreia. Por outro lado, ÁVILA (2009) verificou redução significativa da calemia em bezerros infectados com *S. Typhimurium* e não tratados.

Tabela 16. Concentração de **potássio** (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	4,16±0,23 Aa	4,32±0,21 Abc	4,24±0,18 Aa
24	4,06±0,14 Ca	4,97±0,49 Aa	4,49±0,13 Ba
48	4,03±0,11 Ba	4,29±0,23 ABbc	4,61±0,26 Aa
72	4,01±0,28 Ba	4,46±0,09 Ab	4,65±0,19 Aa
96	3,87±0,21 Ba	4,33±0,37 Abc	4,36±0,15 Aa
120	3,75±0,20 Ba	4,34±0,39 Abc	4,44±0,31 Aa
144	3,77±0,25 Ba	4,06±0,30 Bbc	4,57±0,26 Aa
168	3,82±0,22 Ba	3,98±0,20 Bc	4,48±0,22 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

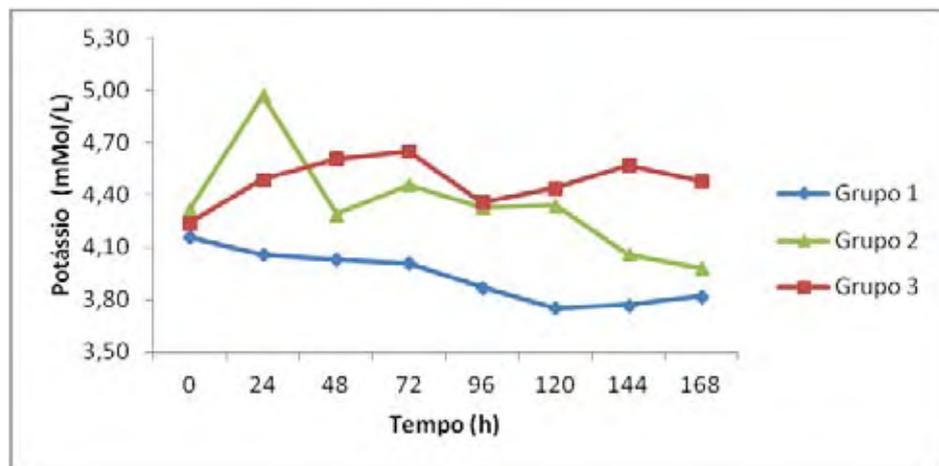


Figura 18. Variação dos valores médios da concentração de **potássio** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.2.7 Concentração sanguínea de cálcio ionizado (Ca^{2+})

Apesar das oscilações, o teor sanguíneo de cálcio ionizado não sofreu alteração significativa nos três grupos experimentais, no decorrer do experimento (Tabela 17 e Figura 19). Resultados similares foram descritos em outros modelos experimentais de salmonelose em bezerros bovinos e bubalinos (SILVA, 2007; SANTANA, 2012).

Tabela 17. Concentração de **cálcio ionizado** (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	0,91±0,12 Aa	0,90±0,17 Aa	0,96±0,11 Aa
24	0,87±0,14 Aa	1,06±0,18 Aa	0,74±0,09 Aa
48	0,88±0,16 Aa	0,83±0,12 Aa	0,79±0,06 Aa
72	0,79±0,13 Aa	0,88±0,09 Aa	0,80±0,16 Aa
96	0,99±0,08 Aa	0,97±0,17 Aa	0,81±0,27 Aa
120	0,86±0,13 Aa	0,98±0,15 Aa	0,71±0,11 Aa
144	0,78±0,12 Aa	0,89±0,15 Aa	0,82±0,20 Aa
168	0,73±0,16 Aa	0,96±0,17 Aa	0,75±0,15 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

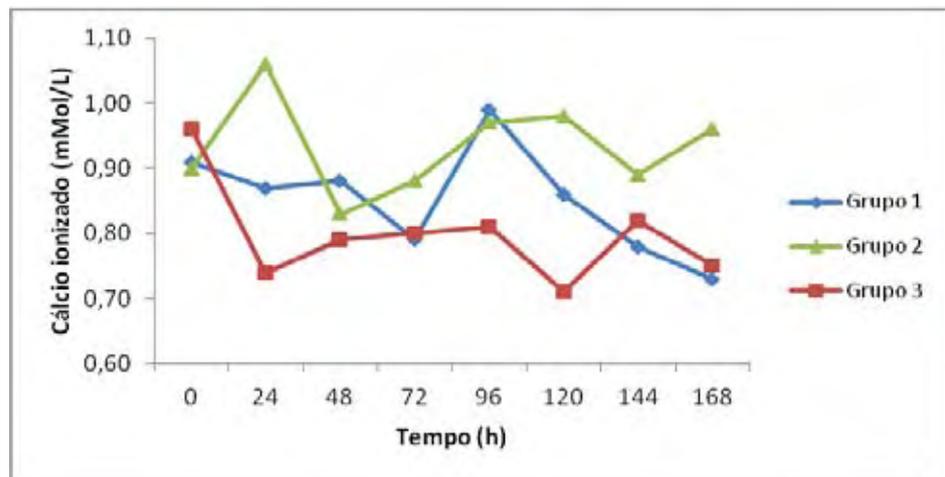


Figura 19. Variação dos valores médios da concentração de **cálcio ionizado** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.2.8 Concentração sanguínea de cloretos (Cl⁻)

O teor de cloretos não variou significativamente no Grupo 2 (Tabela 18 e Figura 20). Por outro lado, ocorreu declínio significativo da média às 96 horas no grupo controle (Grupo 1) sem, no entanto, diferir estatisticamente do valor basal (0 hora). No Grupo 3, verificou-se aumento significativo após a inoculação, que se prolongou até o término do período experimental.

Durante as diarreias secretórias, ocorre perda fecal de cloreto, devido à secreção deste ânion pelas criptas intestinais, provocando redução da sua concentração plasmática (REBHUN, 2000; GUYTON & HALL, 2006; SCOTT et al. 2008). Porém, a concentração de cloreto tende a variar de modo inversamente proporcional à de bicarbonato e, portanto, a hiperclorêmia pode se instalar quando há acidose metabólica, em consequência do mecanismo compensatório renal de reabsorção de cloreto em resposta à excessiva perda do ânion bicarbonato, visando manter a eletroneutralidade (GUYTON & HALL, 2006; CARLSON, 2010; FREITAS et al. 2010).

Assim, enquanto no Grupo 3 verificou-se uma resposta hiperclorêmica durante o período experimental, no Grupo 2 houve predominância da perda de cloretos, embora não tenha levado a redução significativa da cloremia.

SANTOS et al. (2002a) observaram redução do teor de cloretos em bezerros bovinos infectados experimentalmente com *S. Typhimurium*, enquanto a infecção por *S. Dublin* em bubalinos não provocou variações expressivas na concentração sérica deste analito (SANTANA, 2012).

Tabela 18. Concentração de **cloretos** (média±desvio padrão; mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	105 ± 2,94 Aab	105 ± 2,35 Aa	102 ± 3,81 Ab
24	106 ± 2,07 Aab	104 ± 3,81 Aa	106 ± 2,23 Aab
48	105 ± 2,35 Aab	106 ± 2,61 Aa	107 ± 2,19 Aab
72	106 ± 2,11 Aa	102 ± 1,73 Aa	107 ± 2,60 Aab
96	101 ± 2,02 Bb	103 ± 2,08 ABa	107 ± 2,89 Aab
120	101 ± 2,48 Bab	102 ± 1,43 ABa	107 ± 2,93 Aab
144	102 ± 3,58 Bab	104 ± 1,38 ABa	109 ± 1,53 Aa
168	103 ± 4,90 Bab	104 ± 2,06 ABa	109 ± 2,96 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

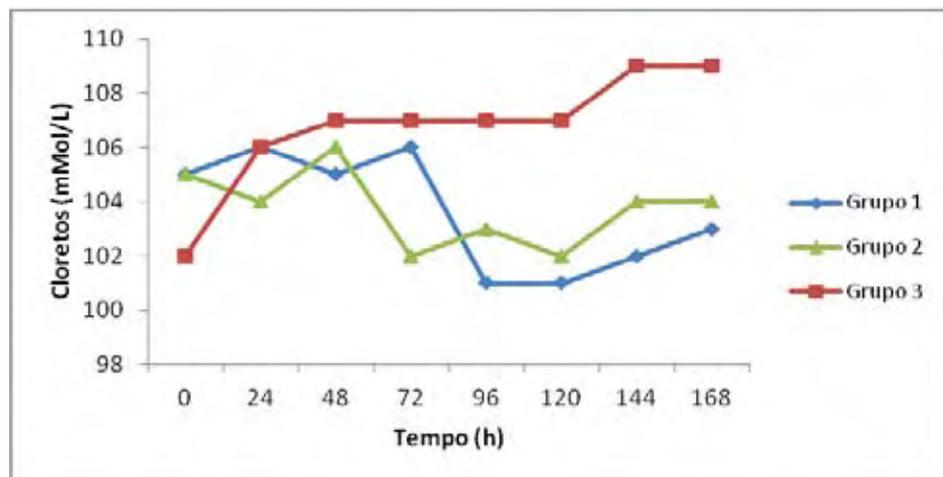


Figura 20. Variação dos valores médios da concentração de **cloretos** (mMol/L) no sangue venoso de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.3 Hematologia

Os resultados das análises relativas ao eritrograma, leucograma e plaquetograma encontram-se nas Tabelas 19 a 26 e Figuras 21 a 28.

5.3.1 Eritrograma

No que se refere às contagens de hemácias, não ocorreu diferença estatística entre grupos nem entre momentos (Tabela 19 e Figura 21). Estas mantiveram certa estabilidade no decorrer do experimento em todos os grupos.

Já quanto ao volume globular (VG), os valores no grupo controle (Grupo 1) não apresentaram, ao longo do experimento, variação significativa entre os momentos nem em relação aos demais grupos (Tabela 20 e Figura 22). Já no Grupo 2, notou-se aumento inicial da 0 às 48 horas, seguido de declínio significativo que perdurou até o final do período de avaliação. No Grupo 3, também ocorreu queda do valor médio com o passar do tempo, sem, no entanto, ser verificada diferença estatística entre momentos.

Os teores de hemoglobina mantiveram estabilidade durante os sete dias de avaliação, nos Grupos 1 e 3 (Tabela 21 e Figura 23). No Grupo 2, observou-se aumento entre 0 e 72 horas, seguido de redução, das 96 às 168 horas, sem, contudo, ocorrer diferença estatística em relação ao valor basal (0 hora).

Aumentos na contagem de hemácias, VG e concentração de hemoglobina foram descritos por SANTOS et al. (2002a) em bezerros bovinos com salmonelose por *S. Typhimurium*. Tais alterações são atribuídas ao quadro de hemoconcentração que se instala durante a ocorrência da diarreia (WRAY & DAVIES, 2000; SANTOS et al. 2002a; SMITH, 2010). Isso explica a elevação dos valores de VG e hemoglobina registrados no Grupo 2, nos primeiros dias de experimento. O declínio observado a seguir, em ambas as determinações, pode se dever à perda sanguínea nas fezes, observada em todos os bezerros desse grupo, e que, segundo REBHUN (2000), pode causar discreta anemia, mas também ao comprometimento da eritropoiese, que ocorre durante infecções inflamatórias devido à redução da disponibilidade de ferro e disfunção da

eritropoietina, mecanismos lançados pelo hospedeiro para privar o microrganismo do ferro (JURADO, 1997).

Tabela 19. Contagem de **hemácias** (média±desvio padrão; $\times 10^6/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	9,68±1,35 Aa	10,0±0,67 Aa	10,7±1,25 Aa
24	9,95±1,35 Aa	10,3±0,48 Aa	10,8±1,41 Aa
48	9,90±0,99 Aa	10,6±0,42 Aa	10,7±1,53 Aa
72	10,3±1,17 Aa	10,6±0,18 Aa	10,6±1,58 Aa
96	9,92±1,14 Aa	10,2±0,50 Aa	10,6±1,29 Aa
120	10,2±1,09 Aa	10,2±0,73 Aa	10,8±1,22 Aa
144	9,94±1,33 Aa	9,94±0,52 Aa	10,6±1,37 Aa
168	10,0±1,21 Aa	9,78±0,73 Aa	10,5±1,20 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

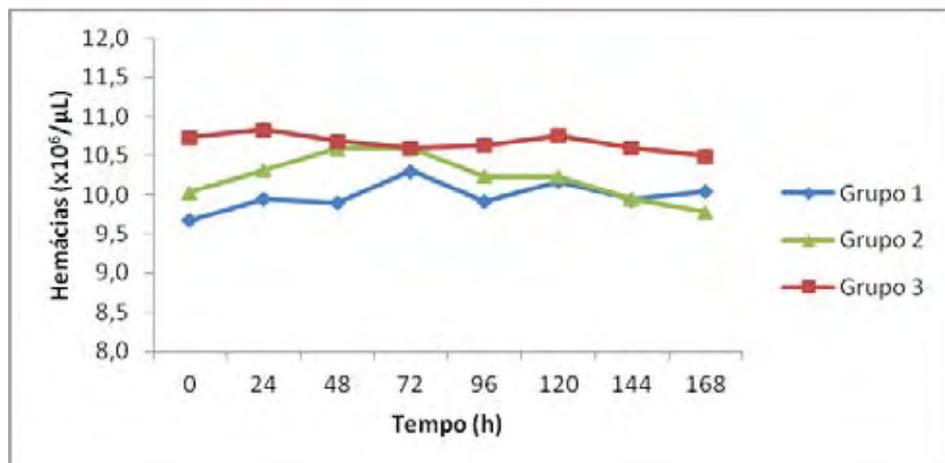


Figura 21. Variação dos valores médios da contagem de **hemácias** ($\times 10^6/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 20. Volume globular (média±desvio padrão; %) do sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	42,5±7,20Aa	43,5±3,46 Aabc	43,4±3,46 Aa
24	43,8±7,50Aa	44,5±1,95 Aab	43,6±3,96 Aa
48	43,3±5,83Aa	45,5±2,23 Aa	43,0±5,00 Aa
72	44,6±6,50Aa	45,2±2,69 Aab	42,2±4,94 Aa
96	43,5±6,43Aa	43,5±3,06 Aabc	42,2±3,73 Aa
120	44,6±5,45Aa	43,2±3,36 Aabc	42,7±3,52 Aa
144	43,8±7,15Aa	41,8±3,58 Abc	42,3±4,25 Aa
168	42,5±6,56Aa	40,9±3,80 Ac	41,6±4,23 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

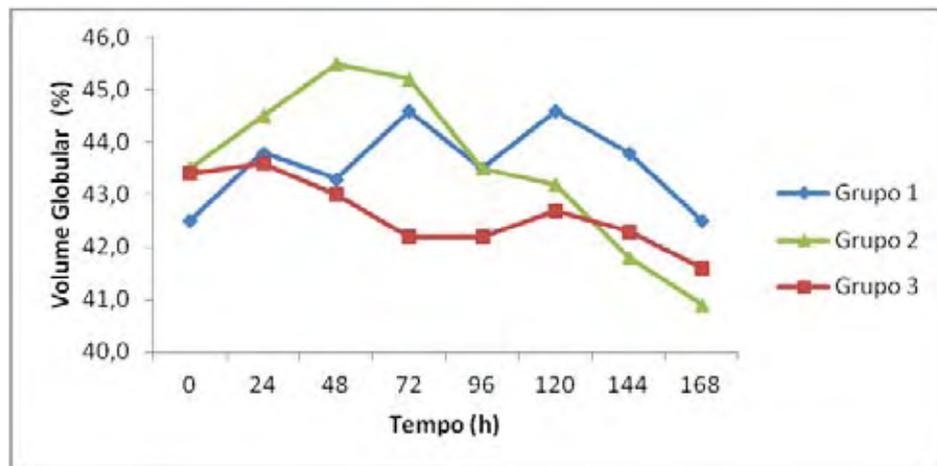


Figura 22. Variação dos valores médios do **volume globular** (%) do sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 21. Teor de **hemoglobina** (média±desvio padrão; g/dL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	15,9±1,60Aa	16,2±1,03 Aab	16,0±1,14 Aa
24	16,3±1,74Aa	16,5±0,46 Aab	16,0±1,27 Aa
48	16,2±1,37Aa	16,9±0,90 Aa	15,8±1,68 Aa
72	16,7±2,00ABa	17,1±1,04 Aa	15,6±1,63 Ba
96	16,2±1,66Aa	16,4±0,89 Aab	15,8±1,26 Aa
120	16,5±1,51Aa	16,2±0,89 Aab	15,7±1,30 Aa
144	16,3±1,91 Aa	15,9±1,14 Aab	15,8±1,53 Aa
168	16,2±1,85Aa	15,5±1,12 Ab	15,4±1,60 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

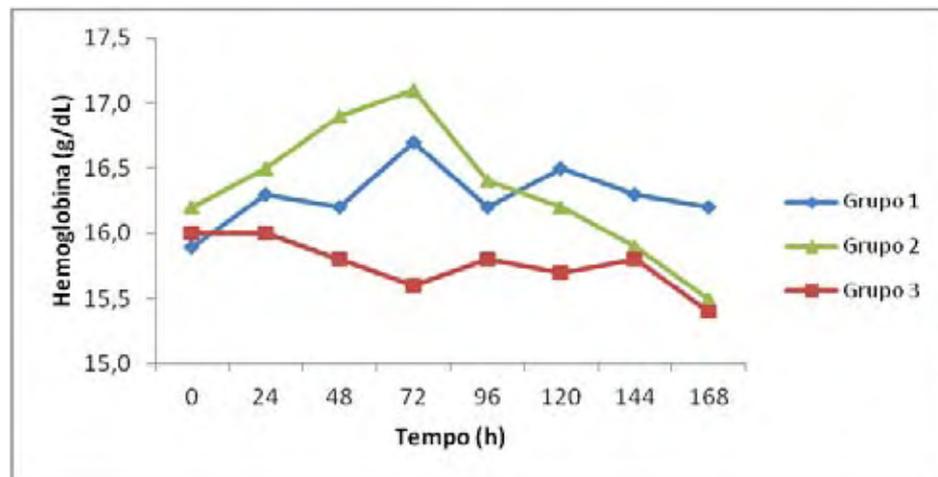


Figura 23. Variação dos valores médios do teor de **hemoglobina** (g/dL) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.3.2 Leucograma

A contagem total de leucócitos não sofreu alterações nos animais sadios (Grupo 1) (Tabela 22 e Figura 24). No grupo infectado sem tratamento (Grupo 2), destacou-se uma leucopenia a partir das 96 horas, que se manteve até o último dia de avaliação, embora os valores não diferiram estatisticamente em relação ao valor basal (0 hora). Já no grupo que recebeu o antimicrobiano (Grupo 3), as médias se elevaram às 72 horas e retornaram aos valores próximos do basal às 144 e 168 horas, apesar de não terem ocorrido diferenças estatísticas das médias em relação ao respectivo valor pré-inoculação.

O número de neutrófilos segmentados elevou-se após a inoculação, no Grupo 2, atingindo um pico às 72 horas, quando diferiu estatisticamente do grupo controle (Grupo 1), seguido de acentuado declínio nas contagens até as 168 horas (Tabela 23 e Figura 25). No grupo tratado com o antibiótico (Grupo 3), o mesmo pico pôde ser observado às 72 horas, também ocorrendo diferença estatisticamente significativa em relação ao Grupo 1. Logo após, as médias declinaram de forma menos abrupta que no Grupo 2, aproximando-se aos valores basais. No Grupo 1, as contagens mantiveram-se estáveis.

Após a infecção experimental, as contagens de neutrófilos bastonetes aumentaram acentuadamente nos Grupos 2 e 3, atingindo pico às 72 e 96 horas, respectivamente (Tabela 24 e Figura 26). No Grupo 2, o aumento foi de até 612% em relação ao valor basal e, no Grupo 3, chegou até 505%. Em seguida, os valores decresceram, reaproximando-se aos anteriores à inoculação. No Grupo 1, houve variação insignificante das contagens.

A queda na contagem total de leucócitos registrada no Grupo 2, a partir do quarto dia de infecção, acompanhou o declínio das concentrações de neutrófilos segmentados e bastonetes. Da mesma forma, o aumento na contagem de leucócitos no Grupo 3 acompanhou o aumento nos dois tipos de neutrófilos, corroborando o relato feito por WRAY & DAVIES (2000) de leucocitose com aumento de neutrófilos jovens em bezerros sobreviventes da salmonelose. O aumento nas contagens de neutrófilos

segmentados nos grupos infectados pode ser explicado pela resposta inflamatória à colonização intestinal pelas salmonelas. O consumo de neutrófilos maduros nessa reação inflamatória gerou uma resposta regenerativa da medula óssea, marcada pelo aumento expressivo de neutrófilos bastonetes em ambos os grupos. Semelhantemente, SANTOS et al. (2002a) descrevem aumento de neutrófilos bastonetes 24 horas após infecção com *S. Typhimurium*. Neutrofilia com desvio à esquerda ocorre na fase aguda de infecções bacterianas (MORRIS, 2010), embora muitos pacientes com salmonelose possam apresentar leucopenia com neutropenia quando severamente afetados, devido à intensa migração dos neutrófilos circulantes para a mucosa intestinal e à pequena reserva de granulócitos na medula óssea dos bezerros (SANTOS et al. 2002a). Essa intensa migração explicaria a leucopenia e neutropenia observada, a partir das 96 horas pós-infecção, nos animais que não receberam tratamento para a salmonelose (Grupo 2).

Ainda que SANTANA (2012) aponte retorno à normalidade nas contagens de neutrófilos segmentados logo após início de tratamento com florfenicol em bezerros bubalinos infectados com *S. Dublin*, não se constatou o mesmo efeito com *S. Typhimurium*.

Tabela 22. Contagem total de **leucócitos** (média±desvio padrão; $\times 10^3/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	11,4±2,98 ^{Aa}	12,0±4,42 ^{Aab}	13,1±1,86 ^{Aa}
24	11,7±2,67 ^{Aa}	11,7±3,68 ^{Aab}	13,6±1,19 ^{Aa}
48	11,0±2,69 ^{Aa}	12,9±3,18 ^{Aa}	13,0±1,51 ^{Aa}
72	10,9±1,62 ^{Ba}	12,3±2,79 ^{ABab}	15,7±4,09 ^{Aa}
96	10,8±1,10 ^{Ba}	9,46±3,17 ^{Bab}	15,3±2,22 ^{Aa}
120	10,6±1,57 ^{ABa}	9,14±3,29 ^{Bb}	14,5±0,45 ^{Aa}
144	10,5±1,51 ^{Aa}	9,00±3,47 ^{Ab}	12,8±1,69 ^{Aa}
168	11,4±1,05 ^{ABa}	9,06±3,14 ^{Bb}	13,2±1,91 ^{Aa}

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

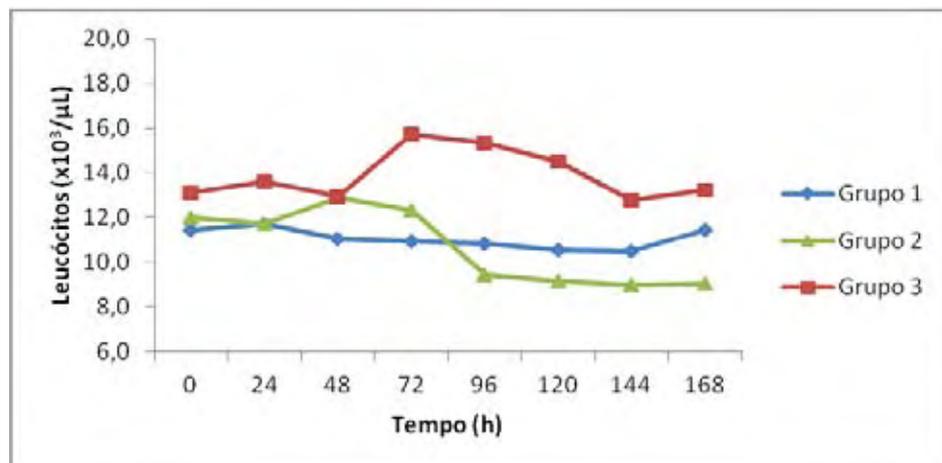


Figura 24. Variação dos valores médios da contagem total de **leucócitos** ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 23. Contagem de **neutrófilos segmentados** (média±desvio padrão; / μL) no sangue de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	3.857±1.922 Aa	4.803±2.102 Aabc	3.794±1.094 Aa
24	3.989±1.869 Aa	3.979±1.182 Aabc	4.380±2.407 Aa
48	3.717±1.715 Aa	5.842±2.687 Aab	3.893±2.779 Aa
72	3.425±965 Ba	6.572±2.252 Aa	6.679±4.906 Aa
96	2.945±1.013 Ba	3.276±1.993 ABabc	6.316±2.874 Aa
120	2.808±1.053 Ba	2.634±1.499 Bbc	6.221±1.306 Aa
144	2.827±1.332 Aa	2.263±2.080 Ac	4.342±842 Aa
168	2.834±1.156 Aa	2.018±1.303 Ac	4.700±828 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

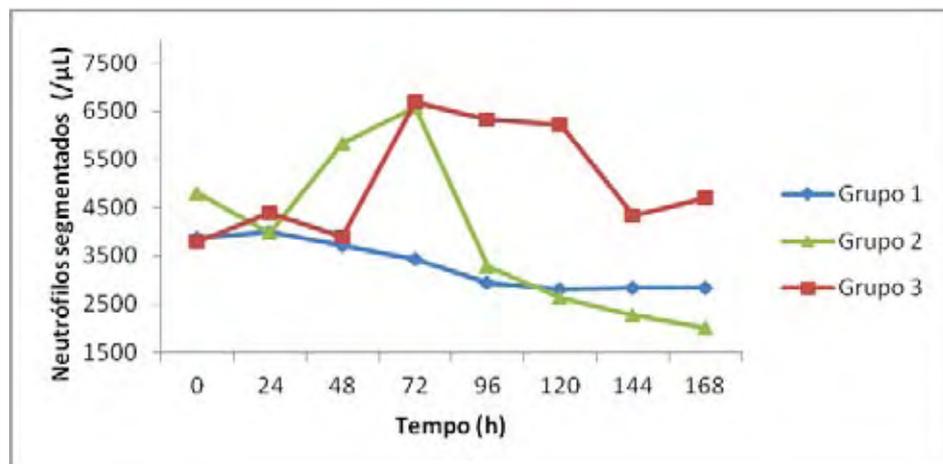


Figura 25. Variação dos valores médios da contagem de **neutrófilos segmentados** (/ μL) no sangue de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 24. Contagem de **neutrófilos bastonetes** (média±desvio padrão; / μL) no sangue de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	0,00±0,00 Aa	58,4 ± 80,8 Ab	55,4 ± 76,4 Aab
24	0,00±0,00 Aa	143 ± 129 Aab	55,2 ± 76,0 Aab
48	0,00±0,00 Ba	304 ± 492 Aab	99,4 ± 56,3 ABab
72	0,00±0,00 Ba	416 ± 255 Aa	162 ± 157 Bab
96	48,8± 109 Ba	191 ± 107 ABab	335 ± 386 Aa
120	0,00±0,00 Aa	239 ± 89,1 Aab	59,0 ± 80,8 Aab
144	0,00±0,00 Aa	147 ± 213 Aab	152 ± 110 Aab
168	0,00±0,00 Aa	171 ± 137 Aab	0,00 ± 0,00 Ab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

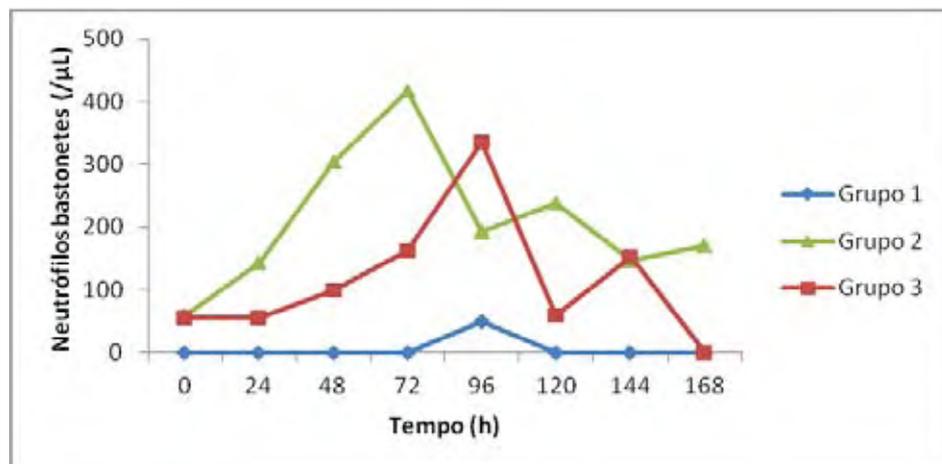


Figura 26. Variação dos valores médios da contagem de **neutrófilos bastonetes** (μL) no sangue de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

O número de linfócitos sofreu alteração significativa apenas no Grupo 2, sendo notada queda após as 24 horas de infecção, com valor mínimo às 72 horas (Tabela 25 e Figura 27). Em seguida, os valores aumentaram, reaproximando-se ao encontrado no momento anterior à inoculação (0 hora). No grupo controle e no grupo tratado com florfenicol (Grupos 1 e 3), os valores mantiveram-se estáveis.

SANTOS et al. (2002a) também identificaram redução significativa do número de linfócitos nas primeiras 48 horas após a infecção experimental de bezerros bovinos com

Salmonella Typhimurium e retorno à normalidade às 72 horas após a inoculação. MORRIS (2010) informa que infecções bacterianas graves podem ser causa de linfopenia.

Tabela 25. Contagem de **linfócitos** (média±desvio padrão; / μ L) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	7.333±1.283 Aa	6.954±2.531 Aab	8.986±3.013 Aa
24	7.658±1.151 Aa	7.323±2.948 Aa	9.042±2.004 Aa
48	7.138±1.379 Aa	6.288±1.940 Aab	8.662±2.409 Aa
72	7.283±1.499 ABa	4.993±1.731 Bb	8.535±2.174 Aa
96	7.454±893 Aa	5.787±2.435 Aab	8.472±1.502 Aa
120	7.500±755 Aa	6.087±2.133 Aab	7.686±1.354 Aa
144	7.516±531 Aa	6.286±1.830 Aab	7.777±1.739 Aa
168	8.324±1.374 Aa	6.664±1.723 Aab	8.108±1.798 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

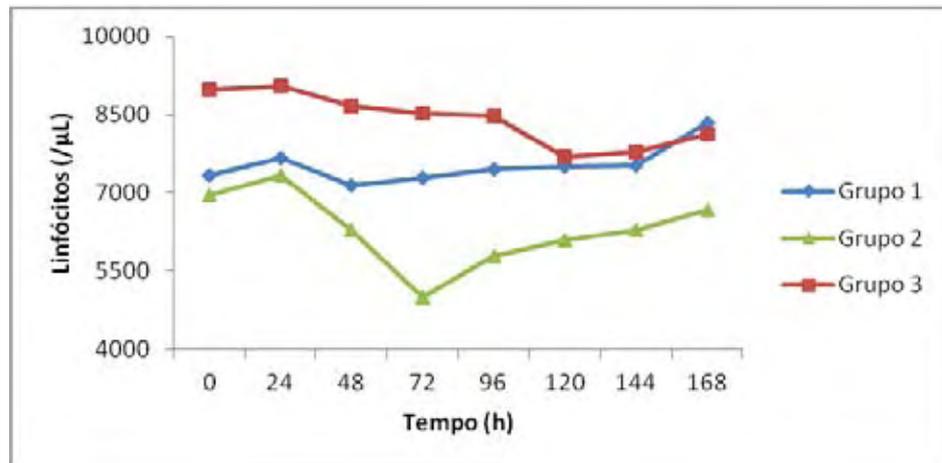


Figura 27. Variação dos valores médios da contagem de **linfócitos** (/ μ L) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Devido à grande variação das contagens de **monócitos** apresentadas nos três grupos experimentais, sua interpretação limitou-se à análise descritiva. Os valores variaram de 0 a 488 células/ μ L no **Grupo 1**; 0 a 501 células/ μ L no **Grupo 2** e 0 a 685 células/ μ L no **Grupo 3**. Segundo MORRIS (2010), a contagem de monócitos não é

muito sensível à doença inflamatória em grandes animais, não constituindo uma parte importante do leucograma.

Nas contagens relativas de **eosinófilos** e **basófilos** em esfregaço sanguíneo foram encontradas células apenas em alguns momentos. Quando encontradas, os valores de eosinófilos variaram de 95 a 488 células/ μL no **Grupo 1**, 63 a 568 células/ μL no **Grupo 2** e 104 a 504 células/ μL no **Grupo 3**. Nos esfregaços em que foram encontrados basófilos, constataram-se valores de 95 a 153 células/ μL no **Grupo 1**, 104 a 176 células/ μL no **Grupo 2** e de 117 a 298 células/ μL no **Grupo 3**.

5.3.3 Plaquetograma

As contagens de plaquetas não diferiram de maneira significativa entre grupos nem entre os momentos avaliados (Tabela 26 e Figura 28), assim como no estudo de ÁVILA (2009). Por outro lado, SANTOS et al. (2002a) descreveram decréscimo significativo da contagem de plaquetas em bezerros bovinos às 48 e 72 horas após infecção com *S. Typhimurium*, atribuindo tal alteração ao quadro de infecção localizada, representada pela enterite fibrinopurulenta.

Tabela 26. Contagem de **plaquetas** (média \pm desvio padrão; $\times 10^3/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	560 \pm 145 Aa	630 \pm 109 Aa	665 \pm 194 Aa
24	559 \pm 154 Aa	675 \pm 93,9 Aa	610 \pm 180 Aa
48	587 \pm 139 Aa	683 \pm 101 Aa	589 \pm 175 Aa
72	595 \pm 112 Aa	583 \pm 55,6 Aa	581 \pm 122 Aa
96	567 \pm 111 Aa	557 \pm 64,5 Aa	535 \pm 118 Aa
120	529 \pm 160 Aa	540 \pm 76,0 Aa	561 \pm 106 Aa
144	492 \pm 111 Aa	550 \pm 150 Aa	596 \pm 74,3 Aa
168	575 \pm 143 Aa	521 \pm 190 Aa	640 \pm 61,8 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

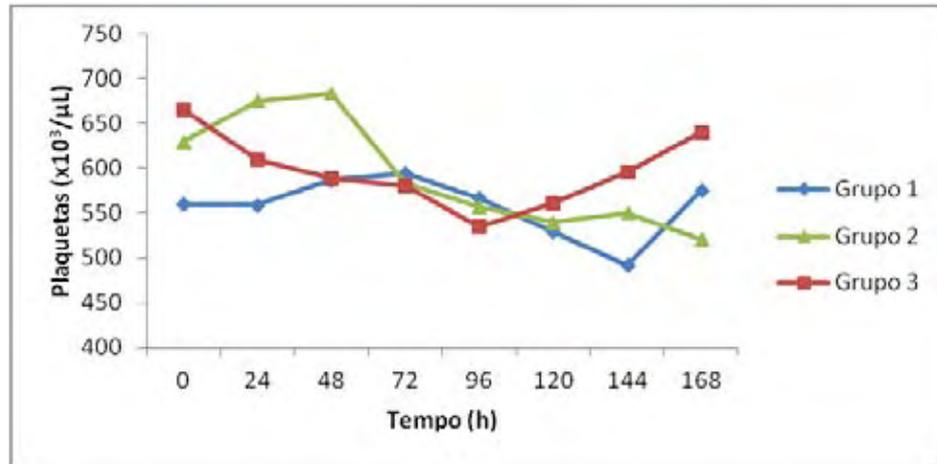


Figura 28. Variação dos valores médios da contagem de **plaquetas** ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no sangue de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4 Análises bioquímicas

Os resultados das análises bioquímicas do plasma e do soro dos animais do experimento estão expostos nas Tabelas 27 a 50 e Figuras 29 a 49.

5.4.1 Concentração plasmática de glicose

A concentração plasmática de glicose decresceu acentuadamente nos animais do grupo infectado sem tratamento (Grupo 2), do momento anterior à inoculação até as 96 horas seguintes, registrando-se redução de até 36,0% em relação ao valor basal (Tabela 27 e Figura 29). A partir de então, a concentração passou a aumentar até o final do período experimental, reaproximando-se ao valor pré-inoculação. No grupo que recebeu as aplicações de florfenicol (Grupo 3), não houve queda significativa da taxa plasmática de glicose. No Grupo 1, os valores não variaram ao longo do tempo.

É importante salientar que neonatos possuem reserva de energia limitada, sendo que qualquer enfermidade pode desencadear um quadro de hipoglicemia, por redução na produção e aumento do consumo de glicose (CARLSON, 2010). Nos casos de diarreia, tal condição pode ser favorecida por anorexia, menor absorção de nutrientes,

inibição da gliconeogênese, aumento da glicólise devido à menor perfusão tecidual e anóxia, bem como por efeito de endotoxinas bacterianas semelhantes à insulina, no fígado (SCOTT et al. 2008). Esse fato explicaria o comportamento da glicemia nos animais do Grupo 2, durante o período que apresentaram diarreia grave devido infecção por *S. Typhimurium*. De forma análoga, o mesmo sorotipo provocou hipoglicemia em bezerros bovinos, 48 e 72 horas após administração do inóculo (SANTOS et al. 2002a; ÁVILA, 2009).

Tabela 27. Concentração plasmática de **glicose** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	95,6±25,8 Aa	102±8,44 Aa	91,1 ± 12,6 Aa
24	88,0±16,7 Aa	91,4±8,83 Aab	92,1 ± 13,2 Aa
48	86,6±19,0 Aa	82,8 ± 12,9 Aabc	92,8±6,48 Aa
72	90,0±13,9 Aa	73,1 ± 14,0 Abc	93,8±9,34 Aa
96	98,3±8,95 Aa	65,3 ± 14,0 Bc	88,9±12,6 Aa
120	95,8±21,5 Aa	73,5 ± 17,7 Abc	85,4 ± 10,8 Aa
144	90,3±24,9 Aa	78,7 ± 11,8 Aabc	89,4 ± 15,7 Aa
168	93,1±16,3 Aa	84,0±6,04 Aabc	87,0±18,8 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

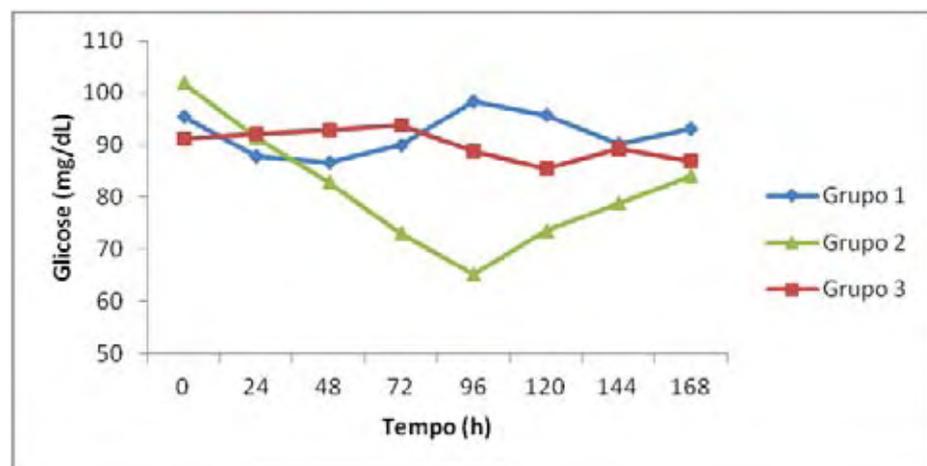


Figura 29. Variação dos valores médios da concentração plasmática de **glicose** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.2 Enzimas

5.4.2.1 Atividade sérica de gamaglutamiltransferase (GGT)

Nos três grupos experimentais, a atividade sérica da gamaglutamiltransferase declinou gradualmente ao longo do período de avaliação, embora essa diminuição só tenha sido estatisticamente significativa no Grupo 1 (Tabela 28 e Figura 30).

Os animais em amamentação apresentam elevada atividade sérica de GGT, em decorrência da absorção da isoenzima de origem colostrar (CARLSON, 2010). Com o avanço da idade, a atividade sérica dessa enzima declina gradualmente devido degradação da GGT materna, como já descrito por FAGLIARI et al. (1998), em bezerros bubalinos.

Tabela 28. Atividade sérica de **gamaglutamiltransferase** (média±desvio padrão; U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	112±133 Aa	84,9±110 Aa	59,7±86,6 Aa
24	101±111 Aab	78,8±103 Aa	55,1±78,5 Aa
48	91,8±95,1 Aab	73,4±92,5 Aa	49,0±67,0 Aa
72	82,6±87,1 Aab	64,3±76,2 Aa	44,4±56,8 Aa
96	71,9±67,3 Aab	55,1±68,5 Aa	42,8±53,4 Aa
120	67,3±65,7 Aab	48,2±53,1 Aa	38,3±47,2 Aa
144	62,7±63,9 Ab	45,9±52,2 Aa	35,2±40,3 Aa
168	58,1±53,7 Ab	41,3±45,5 Aa	33,7±36,9 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

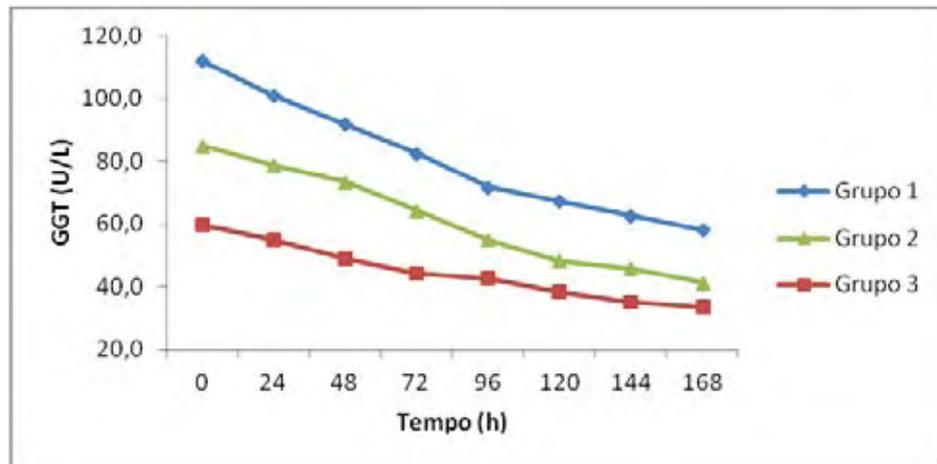


Figura 30. Variação dos valores médios da atividade sérica de **gamaglutamiltransferase** (U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.2.2 Atividade sérica de fosfatase alcalina (ALP)

A atividade sérica da fosfatase alcalina também diminuiu de forma significativa desde o início do período experimental nos três grupos, sendo que, ao término da avaliação, as médias dos Grupos 1 e 3 permaneceram estatisticamente diferentes dos respectivos valores basais (Tabela 29 e Figura 31). Quando comparados grupos, não foram constatadas diferenças estatisticamente significativas. Estes resultados concidem com os obtidos por ÁVILA (2009) em bezerros bovinos da raça Holandesa. Por outro lado, SANTOS et al. (2002a) não detectaram alterações na atividade sérica da ALP em bezerros bovinos experimentalmente infectados com *S. Typhimurium*.

A ALP é empregada como indicador de obstrução intra-hepática ou extra-hepática das vias biliares. Entretanto, em animais jovens, ocorre atividade sérica elevada de ALP devido à liberação da isoenzima pelo osso em crescimento (CARLSON, 2010). Assim, a atividade dessa enzima tende a diminuir em função da idade em bezerros bubalinos (FAGLIARI et al. 1998).

Tabela 29. Atividade sérica de **fosfatase alcalina** (média±desvio padrão; U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	234±18,9 Aa	199±17,3 Aa	202±97,5 Aa
24	186±51,7 Aab	199±13,1 Aa	177±77,7 Aab
48	187±23,9 Aab	179±9,46 Aab	187±102 Aab
72	182±27,5 Aab	161±4,55 Aab	182±83,9 Aab
96	169±22,4 Ab	141±17,6 Aab	164±71,2 Aab
120	171±32,4 Ab	135±24,8 Ab	158±73,2 Aab
144	158±37,3 Ab	141±33,2 Aab	141±52,8 Ab
168	156±41,6 Ab	145±31,9 Aab	139±54,2 Ab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

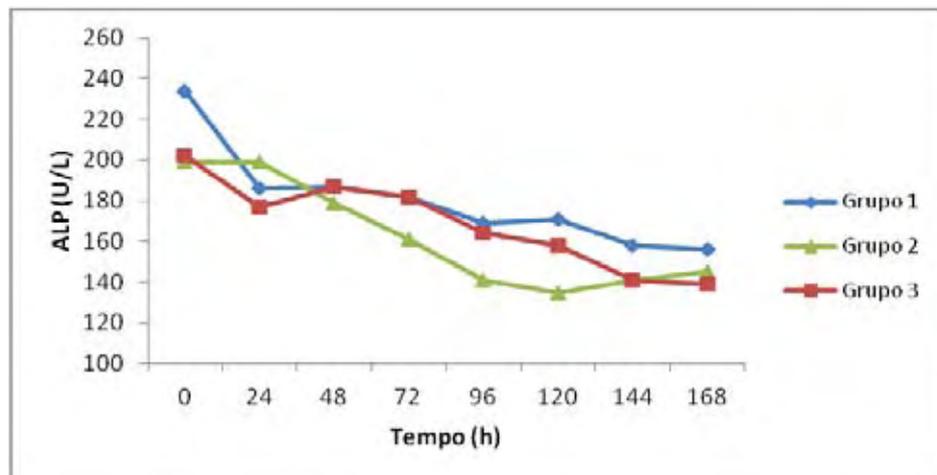


Figura 31. Variação dos valores médios da atividade sérica de **fosfatase alcalina** (U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.2.3 Atividade sérica de aspartato aminotransferase (AST)

Encontrou-se decréscimo da atividade enzimática da aspartato aminotransferase nos Grupos 1 e 2, com valores estatisticamente diferentes dos basais apenas no primeiro grupo, a partir das 120 horas (Tabela 30 e Figura 32). No Grupo 3, a atividade dessa enzima não variou de forma significativa em relação ao valor basal, porém notou-

se aumento das 120 às 168 horas, que provocou diferenças estatísticas na comparação com grupo controle (Grupo 1).

A AST é um indicador inespecífico de lesão hepática (CARLSON, 2010), que não se alterou significativamente em estudos prévios envolvendo infecção experimental com *Salmonella* spp em bezerros bovinos e bubalinos (SANTOS et al. 2002a; SILVA, 2007; ÁVILA, 2009; SANTANA 2012). Decréscimo da sua atividade sérica com o avanço da idade, como observado nos Grupo 1 e 2, foi descrito em bezerros bovinos (FAGLIARI, 1998). O ligeiro aumento observado no Grupo 3 pode ser explicado pelas aplicações intramusculares do florfenicol, que teria provocado lesão e liberação da isoenzima do tecido muscular.

Tabela 30. Atividade sérica de **aspartato aminotransferase** (média±desvio padrão; U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	94,7±27,6 Aa	99,5±22,8 Aa	90,6±7,77 Aa
24	98,4±30,3 Aa	91,8±19,1 Aa	88,0±7,54 Aa
48	97,8±31,3 Aa	90,1±17,5 Aa	94,3±12,3 Aa
72	88,4±25,3 Aab	82,2±11,9 Aa	89,1±17,0 Aa
96	77,9±20,2 Aac	83,8±14,3 Aa	88,0±18,3 Aa
120	68,5±17,9 Bbc	82,8±13,6 ABa	93,2±22,7 Aa
144	65,3±16,3 Bc	79,6±15,0 ABa	96,4±21,1 Aa
168	61,7±9,46 Bc	82,8±13,0 Aa	104±20,8 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

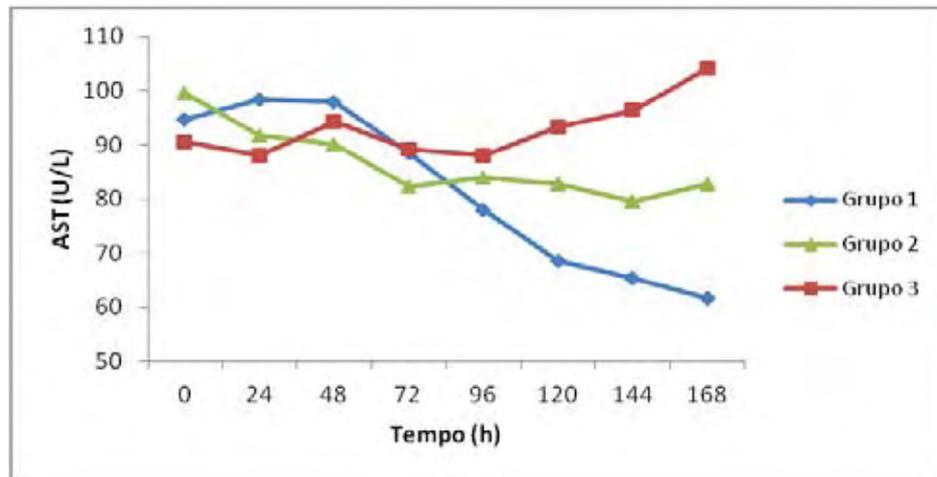


Figura 32. Variação dos valores médios da atividade sérica de **aspartato aminotransferase** (U/L) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.2.4 Atividade sérica de lactato desidrogenase (LDH)

Notou-se redução significativa da atividade sérica da lactato desidrogenase nos Grupos 1 e 2 (Tabela 31 e Figura 33). Essa redução ocorreu entre as 24 e 168 horas no Grupo 1, e entre as 24 e 144 horas no Grupo 2. No grupo que recebeu tratamento antimicrobiano (Grupo 3), os valores não sofreram variação significativa durante todo o período de avaliação.

A LDH se encontra em elevadas concentrações nas hemácias, nos leucócitos e em diversos tecidos, como o cardíaco, hepático, muscular e renal (CARLSON, 2010). A sua atividade sérica é um indicador inespecífico de lesão tecidual e, no presente estudo, por não ter aumentado, não sinalizou danos nos diversos sistemas orgânicos.

Tabela 31. Atividade sérica de **lactato desidrogenase** (média±desvio padrão; U/L) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	1.030±379 Aa	1.044±178 Aa	911±89,0 Aa
24	1.045±390 Aa	1.059±196 Aa	916±129 Aa
48	931±330 Aab	996±165 Aab	945±184 Aa
72	886±316 Aac	966±181 Aab	874±205 Aa
96	824±242 Abc	903±191 Aab	843±170 Aa
120	766±216 Abc	840±175 Ab	908±160 Aa
144	792±227 Abc	840±162 Ab	908±159 Aa
168	723±166 Bc	884±139 ABab	933±104 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

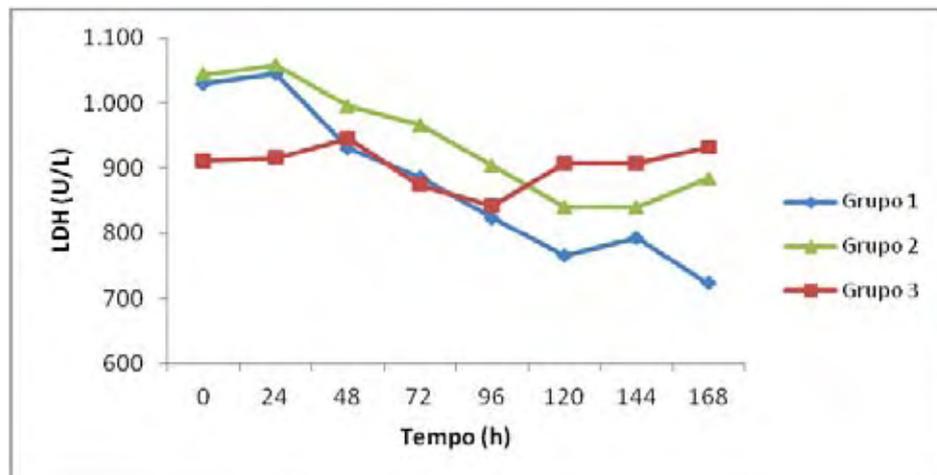


Figura 33. Variação dos valores médios da atividade sérica de **lactato desidrogenase** (U/L) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.3 Metabólitos

5.4.3.1 Concentração sérica de bilirrubina total e direta

As concentrações séricas de bilirrubina total e bilirrubina direta (conjugada) oscilaram ao longo do tempo, em todos os grupos avaliados, embora a significância estatística restringiu-se à bilirrubina total nos Grupos 1 e 3 (Tabelas 32 e 33 e Figuras 34 e 35). De maneira geral, notou-se que, ao final do período experimental (168 horas), todas as médias apresentaram-se reduzidas em relação aos respectivos valores basais (0 hora). Tais resultados concordam com os relatados por SANTANA (2012) em recém-nascidos bubalinos infectados com *S. Dublin*.

A esse respeito, SANTOS et al. (2002a) observaram aumento significativo da concentração da bilirrubina total, associada com declínio da bilirrubina conjugada, às 48 e 72 horas pós-inoculação de bezerros bovinos com *S. Typhimurium*. Os autores atribuíram tais alterações aos efeitos da desidratação e da diminuição da ingestão de alimento sobre a atividade dos hepatócitos.

Já FAGLIARI et al. (1998) observaram decréscimo fisiológico gradativo da concentração de bilirrubina total em búfalos do nascimento aos 45 dias de idade. Esse fato explicaria os resultados obtidos neste estudo.

Tabela 32. Concentração sérica de **bilirrubina total** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	1,17±0,32 Aab	0,91 ±0,36 Aa	1,43 ±0,97 Aa
24	1,22±0,18 Aa	0,77 ±0,24 Aa	0,93 ±0,66 Ab
48	1,13±0,48 Aab	0,65 ±0,30 Aa	0,98 ±0,42 Ab
72	0,85±0,36 Abc	0,71 ±0,25 Aa	0,99 ±0,45 Ab
96	0,83±0,24 Abc	0,82 ±0,32 Aa	1,09 ±0,53 Aab
120	0,71±0,19 Ac	0,68 ±0,29 Aa	0,94 ±0,36 Ab
144	0,74±0,25 Ac	0,69 ±0,21 Aa	0,87 ±0,40 Ab
168	0,70±0,28 Ac	0,62 ±0,31 Aa	0,90 ±0,58 Ab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

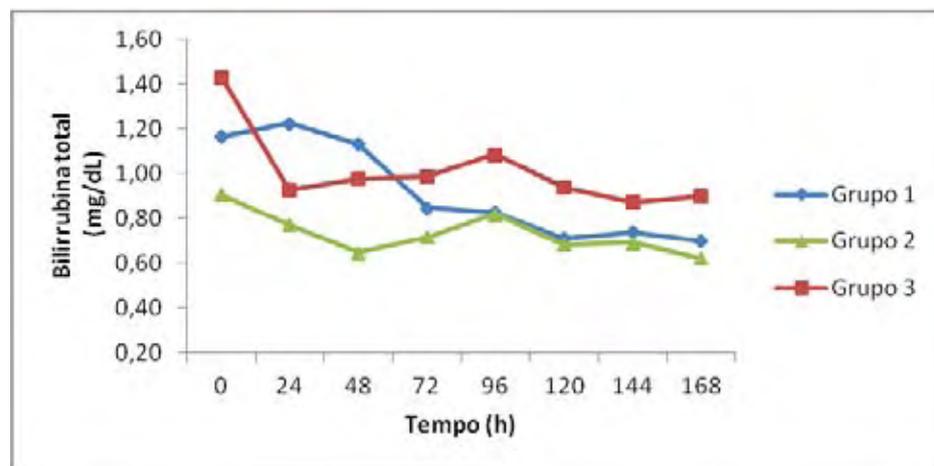


Figura 34. Variação dos valores médios da concentração sérica de **bilirrubina total** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 33. Concentração sérica de **bilirrubina direta** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	0,42±0,10 Aa	0,54±0,36 Aa	0,50±0,23 Aa
24	0,37±0,09 Aa	0,38±0,13 Aa	0,44±0,20 Aa
48	0,36±0,15 Aa	0,38±0,20 Aa	0,48±0,20 Aa
72	0,34±0,15 Aa	0,42±0,22 Aa	0,46±0,20 Aa
96	0,39±0,14 Aa	0,48±0,27 Aa	0,50±0,16 Aa
120	0,32±0,12 Aa	0,44±0,30 Aa	0,47±0,23 Aa
144	0,30±0,11 Aa	0,46±0,33 Aa	0,35±0,04 Aa
168	0,31±0,11 Aa	0,39±0,26 Aa	0,36±0,07 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

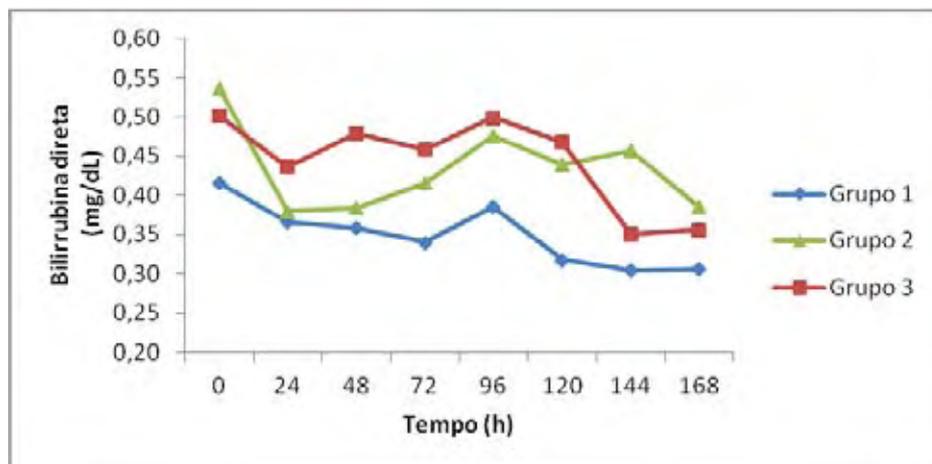


Figura 35. Variação dos valores médios da concentração sérica de **bilirrubina direta** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.3.2 Ureia e creatinina

As médias obtidas na concentração sérica de ureia aumentaram de forma significativa no grupo controle (Grupo 1), do início ao término do tempo de avaliação (Tabela 34 e Figura 36). No Grupo 2, a concentração aumentou entre o momento anterior a inoculação (0 hora) e as 96 horas seguintes, com posterior decréscimo que se estendeu até as 168 horas, quando o valor se reaproximou ao basal. No Grupo 3, a mesma tendência de comportamento pôde ser notada, porém a baixa magnitude dessa variação não acarretou diferença estatística entre momentos.

A concentração sérica média de creatinina entre os bezerros do grupo controle (Grupo 1), apesar do aumento registrado entre 72 e 168 horas, não variou de maneira significativa (Tabela 35 e Figura 37). No Grupo 2, as médias aumentaram gradativamente após a inoculação, atingindo valor máximo nas 72 horas seguintes, quando então passaram a declinar, reaproximando-se ao valor basal. Nos animais que receberam tratamento com florfenicol (Grupo 3), também ocorreu aumento significativo na concentração de creatinina, atingindo diferença estatística em relação ao primeiro momento de avaliação (0 hora), às 96 horas, decaindo logo a seguir.

Os aumentos encontrados nos teores de ureia e creatinina nos grupos infectados podem ser justificados por um início de azotemia pré-renal, que às vezes se estabelece durante as diarreias, devido à grande perda de líquidos, que provoca desidratação e, portanto, redução do volume plasmático, comprometendo a função renal (CARLSON, 2010). Elevações nas concentrações destes catabólitos já foram reportadas em bezerros bovinos infectados experimentalmente com *S. Typhimurium* (SANTOS et al. 2002a).

Tabela 34. Concentração sérica de **ureia** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	19,5±6,23 Ac	27,3±11,2 Ab	21,3±3,86 Aa
24	22,0±7,90 Abc	28,3±10,4 Ab	23,7±4,93 Aa
48	26,4±5,83 Aabc	33,1±11,1 Aab	24,5±8,07 Aa
72	28,4±4,13 Aabc	33,5±12,3 Aab	23,6±9,33 Aa
96	27,3±5,26 ABabc	42,1±17,9 Aa	25,8±8,55 Ba
120	27,4±6,46 ABabc	41,2±15,8 Aa	23,3±8,96 Ba
144	30,0±8,79 ABab	38,6±13,0 Aa	21,6±7,29 Ba
168	32,9±11,5 Aa	33,6±13,7 Aab	21,8±9,54 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

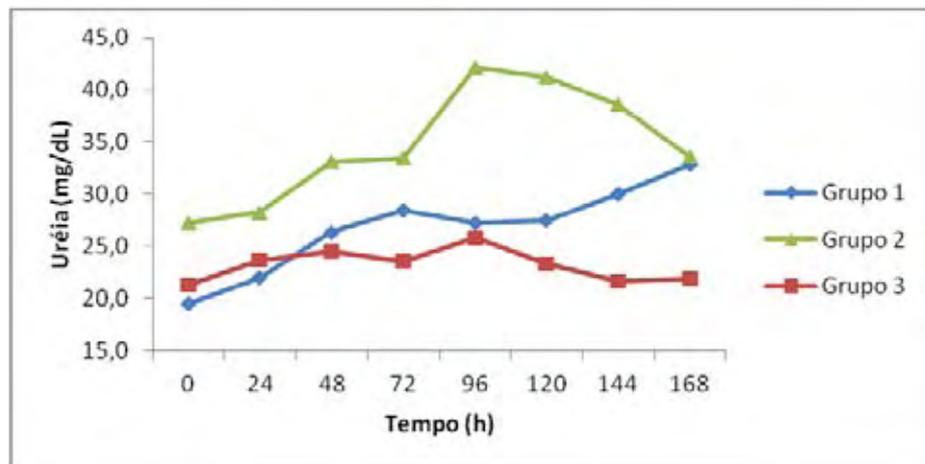


Figura 36. Variação dos valores médios da concentração sérica de **ureia** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 35. Concentração sérica de **creatinina** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	1,47±0,24 Aa	1,39±0,10 Ab	1,40±0,24 Ab
24	1,47±0,19 Aa	1,46±0,15 Aab	1,47±0,21 Aab
48	1,49±0,23 Aa	1,63±0,24 Aa	1,50±0,22 Aab
72	1,46±0,15 Aa	1,68±0,27 Aa	1,55±0,22 Aab
96	1,49±0,16 Aa	1,64±0,16 Aa	1,64±0,27 Aa
120	1,56±0,26 Aa	1,51±0,09 Aab	1,56±0,19 Aab
144	1,65±0,34 Aa	1,49±0,16 Aab	1,44±0,21 Aab
168	1,66±0,36 Aa	1,55±0,30 Aab	1,47±0,14 Aab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

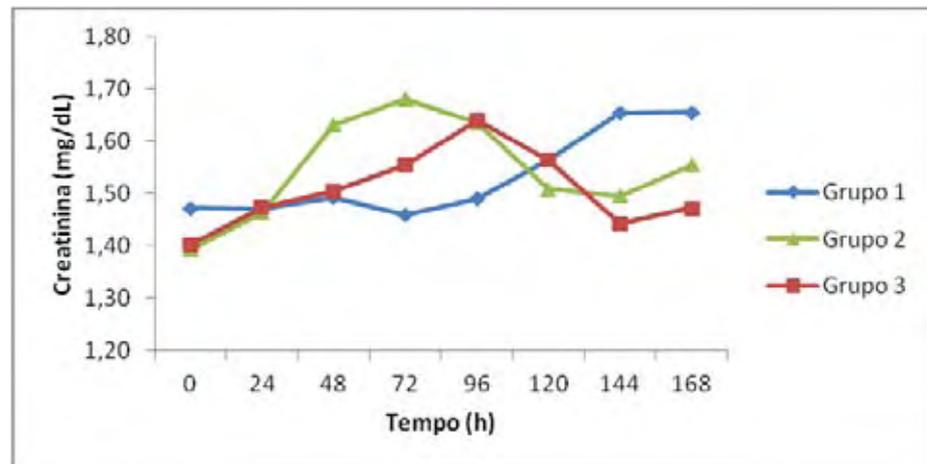


Figura 37. Variação dos valores médios da concentração sérica de **creatinina** (mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.4 Minerais

5.4.4.1 Cálcio e fósforo

A concentração sérica de cálcio total manteve-se relativamente constante ao longo do tempo nos três grupos experimentais (Tabela 36 e Figura 38), concordando com os resultados de SANTANA (2012). Por outro lado, SANTOS et al. (2002a) verificaram diminuição no teor sérico de cálcio nos bezerros inoculados com *S.*

Typhimurium. É comum encontrar-se essa diminuição durante a enterite provocada por *Salmonella* spp, uma vez que a concentração do cálcio sérico é regulada, entre outros mecanismos, pela absorção intestinal e também está diretamente associada à albuminemia (CARLSON, 2010; SMITH, 2010).

Tabela 36. Concentração sérica de **cálcio total** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	9,41±0,90 Aa	9,15±0,37 Aa	9,62±0,52 Aa
24	10,0±0,81 Aa	9,22±0,36 Aa	9,73±0,65 Aa
48	9,94±0,94 Aa	9,08±0,24 Aa	9,70±0,36 Aa
72	10,1±1,21 Aa	8,95±0,47 Ba	9,89±0,43 ABa
96	9,83±1,35 ABa	8,92±0,41 Ba	9,89±0,41 Aa
120	10,1±0,92 Aa	8,74±0,41 Ba	9,86±0,65 Aa
144	9,91±0,85 Aa	9,07±0,73 Aa	9,83±0,47 Aa
168	9,86±0,38 ABa	9,06±0,60 Ba	10,0±0,52 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

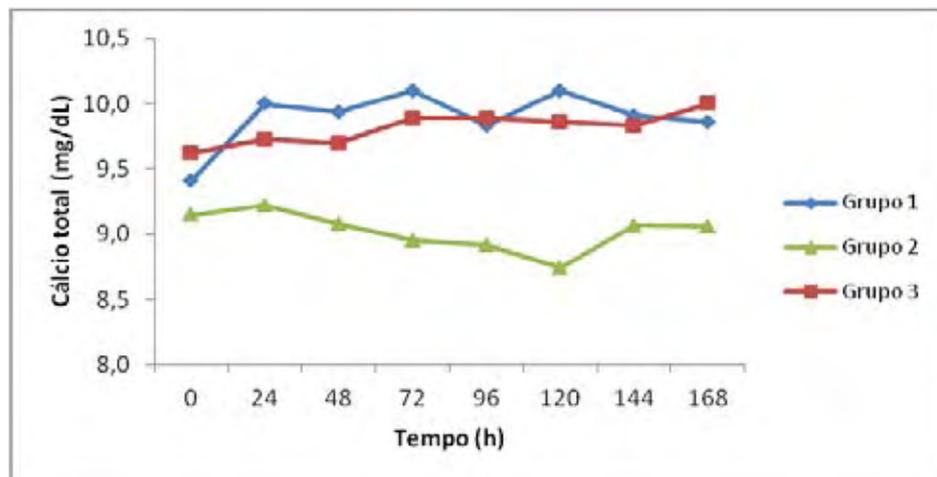


Figura 38. Variação dos valores médios da concentração sérica de **cálcio total** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Verificou-se redução na concentração sérica de fósforo nos animais do grupo sadio (Grupo 1), a partir das 24 horas, registrando-se valores significativamente

menores às 96 horas e 144 horas (Tabela 37 e Figura 39). Nos Grupos 2 e 3, os teores de fósforo oscilaram, sem diferirem estatisticamente do valor basal (0 hora).

FAGLIARI et al. (1998) relatam tendência de diminuição da fosfatemia em bezerros bubalinos do nascimento aos 45 dias de vida, o que justificaria o comportamento deste mineral no Grupo 1 (controle).

Outros autores tampouco obtiveram diferenças significativas no teor sérico de fósforo de bezerros bovinos inoculados com *S. Typhimurium* e *S. Dublin* (SANTOS et al. 2002a; SILVA, 2007; ÁVILA, 2009). Já em bezerros bubalinos infectados experimentalmente com *S. Dublin*, SANTANA (2012) relatou diminuição significativa da fosfatemia e atribuiu tal condição à influência etária associada à má absorção intestinal.

Tabela 37. Concentração sérica de **fósforo** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	7,38±1,27 Aa	7,06±0,64 Aa	7,62±0,85 Aa
24	7,06±1,55 Aab	7,32±0,93 Aa	7,19±0,81 Aa
48	6,59±0,73 Aab	7,48±0,96 Aa	7,50±1,06 Aa
72	6,52±0,76 Aab	6,93±0,68 Aa	7,51±0,82 Aa
96	6,11±0,75 Bb	7,57±0,67 Aa	7,70±0,62 Aa
120	6,27±0,84 Aab	7,05±0,82 Aa	7,30±0,44 Aa
144	6,25±0,80 Bb	6,47±0,41 ABa	7,44±0,80 Aa
168	6,31±0,91 Aab	7,12±1,58 Aa	7,16±0,64 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

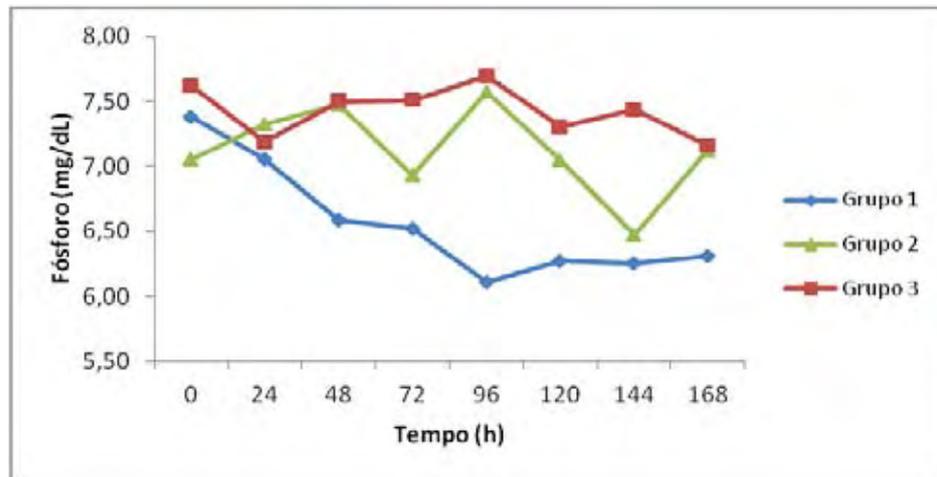


Figura 39. Variação dos valores médios da concentração sérica de **fósforo** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.4.2 Magnésio

As concentrações séricas de magnésio dos animais do Grupo 1 aumentaram progressivamente durante a fase experimental, enquanto nos Grupos 2 e 3, se mantiveram estáveis por todo o tempo (Tabela 38 e Figura 40).

A esse respeito, FAGLIARI et al. (1998) descreveram menores concentrações de magnésio ao nascimento, com aumento progressivo em função da idade, em bezerros bubalinos da raça Murrah. A ausência desse aumento nos grupos infectados (Grupos 2 e 3) pode ser justificada pela perda deste mineral pelo trato gastrointestinal, causada pela diarreia e má absorção durante o quadro de salmonelose (FETTMAN, 2007). Por outro lado, no estudo de SANTANA (2012) com bezerros bubalinos, a infecção com *S. Dublin* não provocou desequilíbrio deste mineral.

Tabela 38. Concentração sérica de **magnésio** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	2,31±0,19 Ac	2,17±0,10 Aa	2,15±0,25 Aa
24	2,48±0,16 Abc	2,22±0,10 ABa	2,19±0,15 Ba
48	2,62±0,22 Aab	2,21±0,15 Ba	2,15±0,24 Ba
72	2,71±0,07 Aab	2,12±0,10 Ba	2,07±0,22 Ba
96	2,69±0,35 Aab	2,12±0,12 Ba	1,98±0,18 Ba
120	2,81±0,23 Aa	2,11±0,14 Ba	2,15±0,17 Ba
144	2,76±0,12 Aa	2,10±0,13 Ba	2,25±0,14 Ba
168	2,77±0,15 Aa	2,08±0,16 Ba	2,24±0,20 Ba

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

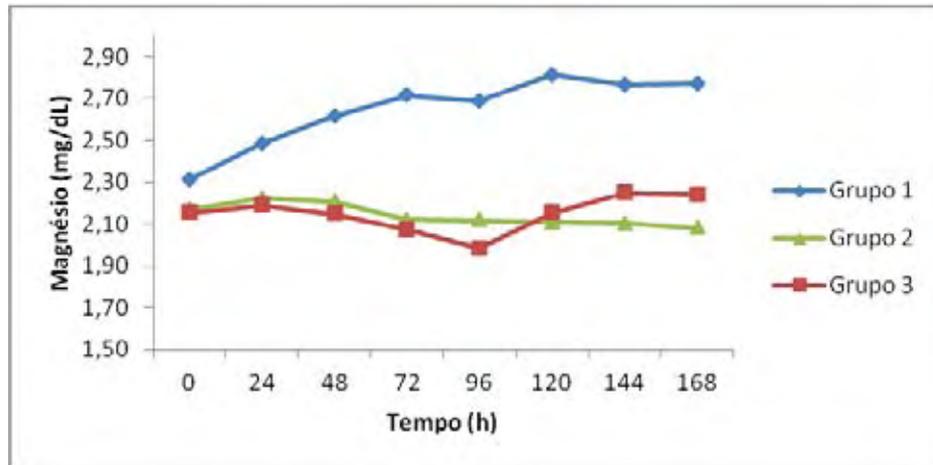


Figura 40. Variação dos valores médios da concentração sérica de **magnésio** (mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.4.3 Ferro

Após a inoculação de *S. Typhimurium*, a concentração sérica de ferro diminuiu acentuadamente nos Grupos 2 e 3, com valores mínimos registrados às 72 e 96 horas, respectivamente (Tabela 39 e Figura 41). No grupo sem tratamento (Grupo 2), os valores começaram a se reestabelecer a partir das 96 horas, com novo declínio às 144 horas. Enquanto no Grupo 3, os valores se elevaram após o início do tratamento às 96

horas, reaproximando-se ao respectivo valor basal. No grupo controle (Grupo 1), o teor sérico de ferro não variou de forma significativa.

Segundo KANEKO et al. (2008), a resposta imune do hospedeiro, mediada pela interleucina-1, promove redução da concentração sérica de ferro após uma invasão bacteriana, uma vez que o crescimento e a multiplicação bacteriana dependem da disponibilidade deste componente bioquímico. Isso explica a expressiva queda, de até 58% e 52%, registrada nos grupos infectados (Grupos 2 e 3).

PIERCY (1979), ÁVILA (2009) e SANTANA (2012) apontam resultados semelhantes em bezerros bovinos e bubalinos experimentalmente infectados com *S. Typhimurium* e *S. Dublin*. SANTANA (2012) relatou ainda, nos búfalos, que a instituição de tratamento com florfenicol provocou, assim como no presente estudo, recuperação contínua das concentrações séricas de ferro. PIERCY (1979) indicou a hipoferremia como sendo parte essencial da defesa do hospedeiro contra a infecção bacteriana e observou que sua magnitude esteve correlacionada com o início e severidade dos sinais clínicos.

Tabela 39. Concentração sérica de **ferro** (média±desvio padrão; µg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	133±55,3 Aa	205 ± 72,2 Aa	205 ± 62,0 Aa
24	105±61,4 Aa	153 ± 69,5 Aab	182 ± 87,0 Aab
48	122±66,3 Aa	145 ± 47,4 Aab	162 ± 64,6 Aab
72	118±69,5 Aa	85,2 ± 62,4 Ab	156 ± 75,0 Aab
96	162±99,1 Aa	101 ± 72,4 Ab	98,6 ± 50,1 Ab
120	149±99,8 Aa	158 ± 114 Aab	148 ± 94,6 Aab
144	136±96,7 Aa	117 ± 50,3 Ab	183 ± 71,7 Aa
168	129±84,5 Aa	130 ± 48,9 Aab	159 ± 52,2 Aab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

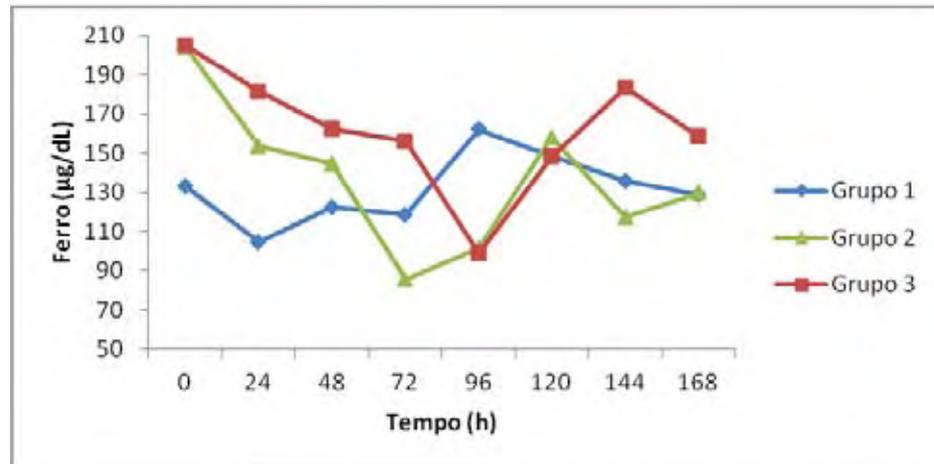


Figura 41. Variação dos valores médios da concentração sérica de **ferro** ($\mu\text{g/dL}$) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.5 Proteínas

5.4.5.1 Fibrinogênio plasmático

A concentração plasmática de fibrinogênio aumentou consideravelmente nos grupos que receberam inóculo de *S. Typhimurium* (Grupos 2 e 3) (Tabela 40 e Figura 42). Valor máximo foi registrado às 120 horas no Grupo 2. A aplicação do medicamento não impediu que teor significativamente maior que o basal fosse alcançado às 144 horas, no Grupo 3. No grupo controle (Grupo 1), as oscilações observadas não foram estatisticamente significativas.

O fibrinogênio é um indicador sensível de inflamação em búfalos (ZARGHAM KHAN et al. 1997). Esta proteína está envolvida no processo de hemostasia e na reparação tecidual (THOMAS, 2000) e sua concentração plasmática frequentemente se eleva durante a enterite fibrinonecrótica provocada por *Salmonella* spp (SMITH, 2010).

SANTANA (2012) também verificou aumento expressivo dos teores de fibrinogênio em bezerros bubalinos experimentalmente infectados com *S. Dublin*. Porém, este autor constatou redução dos valores após início do tratamento com florfenicol, diferentemente do obtido no presente estudo com a infecção por *S. Typhimurium*.

Tabela 40. Concentração plasmática de **fibrinogênio** (média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	640±219 Aa	560±89 Ab	640±89 Ab
24	480±228 Aa	680±110 Aab	600±141 Ab
48	560±167 Ba	680±110 ABab	840±89 Aab
72	680±303 Aa	760±167 Aab	760±167 Aab
96	640±89 Aa	760±89 Aab	680±110 Aab
120	480±179 Ba	840±167 Aa	760±167 Aab
144	720±110 Aa	800±245 Aab	920±110 Aa
168	720±110 Aa	800±141 Aab	800±141 Aab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

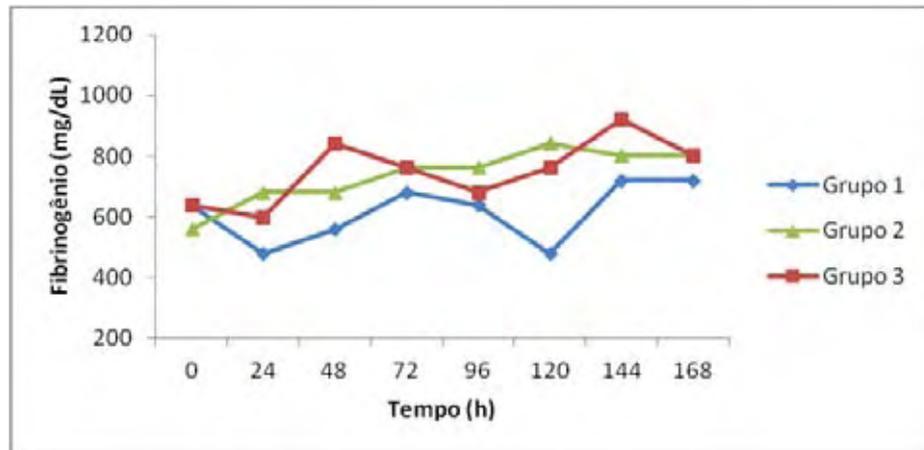


Figura 42. Variação dos valores médios da concentração plasmática de **fibrinogênio** (mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.5.2 Teores séricos de proteína total e albumina

O teor sérico de proteína total manteve-se estável entre os animais dos três grupos, embora notou-se leve declínio entre as 96 e 168 horas pós-inoculação no grupo que não recebeu tratamento (Grupo 2) (Tabela 41 e Figura 43).

Da mesma forma que o teor sérico de proteína total, a concentração de albumina manteve constância nos três grupos experimentais, embora note-se redução

das médias entre as 96 e 168 horas pós-inoculação no grupo que não recebeu tratamento (Grupo 2) e um ligeiro aumento às 96 e 120 horas no Grupo 1 (Tabela 42 e Figura 44). Nos animais que receberam as aplicações de florfenicol (Grupo 3), essas alterações não foram registradas.

Segundo SMITH (2010), na salmonelose, a desidratação inicial pode produzir um valor elevado de proteína total. Entretanto, o teor de proteínas no plasma frequentemente declina durante um período de vários dias, devido ao catabolismo e à intensa perda proteica para o lúmen intestinal associada à enterite fibrinopurulenta e necrosante que se desenvolve (SANTOS et al. 2002a; SCOTT et al. 2008). A coexistência dos dois processos pode explicar a pequena variação encontrada em relação aos teores de proteína total e albumina nos grupos experimentais.

No modelo de infecção experimental desenvolvido por SANTOS et al. (2002a), *S. Typhimurium* provocou declínio da concentração de albumina, paralelamente ao de proteína total, indicando que a perda de proteínas é não seletiva.

Tabela 41. Concentração sérica de **proteína total** (média±desvio padrão; g/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	8,01±0,98 Aa	7,01 ±0,89 Aab	6,99±0,98 Aa
24	8,08±0,97 Aa	6,99 ±0,85 Aab	6,93 ± 1,08 Aa
48	8,05±1,00 Aa	6,97 ±0,79 Aab	6,85 ±0,92 Aa
72	8,03±1,16 Aa	6,78 ±0,47 Aab	6,76 ± 1,02 Aa
96	7,71±0,85 Aa	7,04 ±0,68 Aa	6,74 ±0,87 Aa
120	7,71±0,99 Aa	6,76 ±0,65 Aab	6,77 ±0,96 Aa
144	7,78±1,00 Aa	6,64 ±0,47 Aab	6,86 ± 1,07 Aa
168	7,63±0,88 Aa	6,55 ±0,41 Ab	6,76 ± 1,18 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

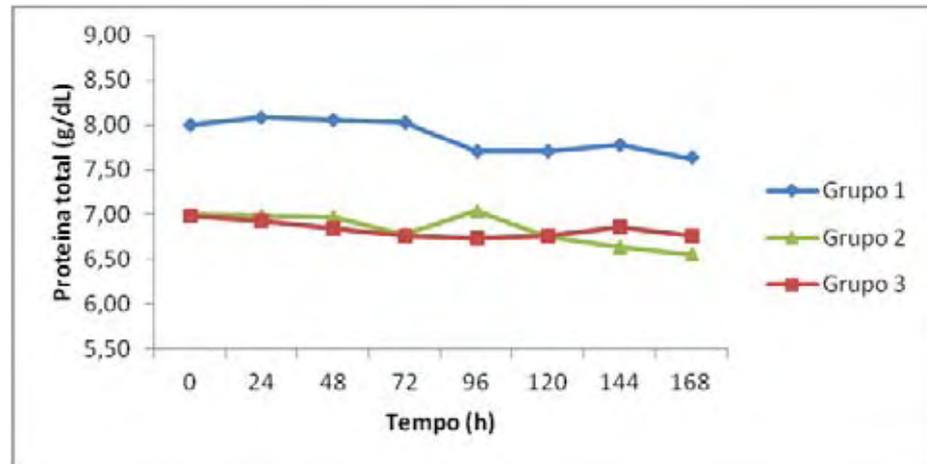


Figura 43. Variação dos valores médios da concentração sérica de **proteína total** (g/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 42. Concentração sérica de **albumina** (média±desvio padrão; g/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	3,24±0,30 Aa	2,76±0,28 Aa	2,81±0,40 Aa
24	3,30±0,27 Aa	2,78±0,26 Aa	2,83±0,33 Aa
48	3,30±0,29 Aa	2,79±0,26 Aa	2,89±0,34 Aa
72	3,31±0,30 Aa	2,76±0,29 Aa	2,82±0,32 Aa
96	3,44±0,60 Aa	2,68±0,33 Ba	2,82±0,40 Ba
120	3,52±0,56 Aa	2,66±0,34 Ba	2,83±0,39 Ba
144	3,29±0,26 Aa	2,57±0,33 Ba	2,85±0,35 ABa
168	3,24±0,22 Aa	2,56±0,28 Ba	2,88±0,30 ABa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

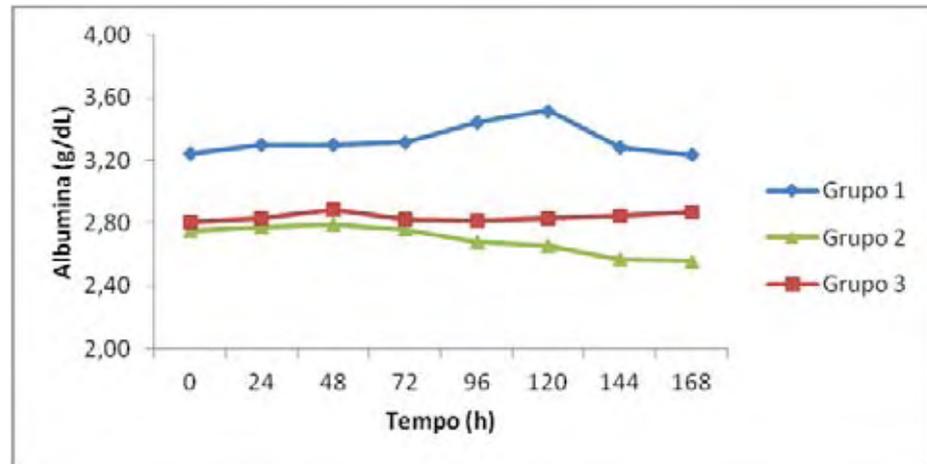


Figura 44. Variação dos valores médios da concentração sérica de **albumina** (g/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

5.4.5.3 Fracionamento eletroforético das proteínas do soro sanguíneo

O fracionamento eletroforético do soro sanguíneo em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) permitiu a detecção de até 30 proteínas, cujos pesos moleculares variaram de 17 a 256 kDa (Figura 45). Destas, sete foram submetidas às análises estatísticas devido à importância diagnóstica: imunoglobulina A (IgA), ceruloplasmina, transferrina, albumina, imunoglobulina G total (IgG total), haptoglobina e glicoproteína ácida (Tabelas 43 a 50 e Figuras 46 a 49).

O teores de IgA, albumina e glicoproteína ácida não variaram de forma significativa dentro de cada grupo durante o estudo (Tabelas 43, 46 e 50). Embora a glicoproteína ácida seja considerada uma importante proteína de fase aguda (PFA) em bovinos, nos quais é usada para monitorar processos inflamatórios (MURATA et al. 2004), na espécie bubalina não se têm obtido os mesmos resultados e ela não tem se comportado como um indicador importante de resposta inflamatória (SANTANA, 2012).

A transferrina é considerada uma PFA negativa na maioria das espécies animais (MURATA et al. 2004) e, como esperado, registrou-se queda nas concentrações desta proteína em todos os grupos, embora mais acentuada nos grupos infectados (Grupos 2 e 3) (Tabela 45 e Figura 47). O grupo que não recebeu tratamento à base de florfenicol

(Grupo 2) encerrou o período experimental com valor médio estatisticamente menor ao basal (0 hora). As concentrações desta proteína também declinaram em suínos com salmonelose aguda experimental (KRAMER et al. 1985)

A determinação da IgG total, que compreende as frações IgG de cadeia pesada e IgG de cadeia leve (IgG-CP e IgG-CL, respectivamente), refletiu a condição imunológica dos animais no momento anterior à inoculação (Tabela 47). Os teores individuais de IgG total apresentaram-se coerentes com a idade dos bezerros e compatíveis com os descritos por FEITOSA et al. (2003) em bezerros bovinos que ingeriram o colostro materno. Em relação aos teores médios de IgG total ao longo do estudo, foi detectado, em todos os grupos, declínio progressivo, que foi estatisticamente significativo nos Grupos 1 e 2 (Tabela 48 e Figura 48). A quantificação da imunoglobulina G permite a avaliação da transferência da imunidade passiva, adquirida através da ingestão do colostro pelos bezerros (FAGLIARI et al. 2006). Portanto, é de se esperar que os teores séricos de IgG declinem com avançar da idade dos bezerros. De acordo com FEITOSA et al. (2003), esse declínio se estende até por volta dos trinta dias de vida, quando então passa a se estabelecer uma imunidade ativa, com produção autógena de imunoglobulinas e, portanto, elevação das concentrações séricas de IgG.

Em relação à PFA positiva ceruloplasmina, uma ferroxidase que contém mais de 95% do cobre do plasma (HELLMAN & GITLIN, 2002), notou-se aumento significativo nos valores médios no Grupo 2, que se iniciou às 48 horas após a infecção e perdurou até o final do estudo (Tabela 44 e Figura 46). No grupo que recebeu o tratamento com antibiótico (Grupo 3) também ocorreu aumento e, apesar da não significância estatística, valores médios maiores foram registrados entre as 120 e 168 horas. No grupo sadio (Grupo 1), a concentração desta proteína se manteve estável. De modo semelhante, em bezerros bubalinos infectados com *S. Dublin*, os teores de ceruloplasmina aumentaram às 60 horas após o início dos sinais clínicos (SANTANA, 2012). PIERCY (1979) constatou aumento significativo da ceruloplasmina sérica entre 3 e 4 dias após infecção por *S. Dublin* em bezerros bovinos, seguido de declínio entre o sexto e sétimo dia. O autor associou esse aumento a uma restauração dos teores séricos de ferro ao final da resposta hipoferrêmica que constituiu o mecanismo de

defesa do organismo contra a bactéria. Essa associação também pode ser aplicada ao presente estudo, uma vez que os maiores aumentos nas concentrações de ceruloplasmina dos grupos infectados (Grupos 2 e 3) ocorreram após o marcante declínio da ferremia e coincidiram com a reestabilização desta (ver item 5.4.4.3).

A haptoglobina é a principal PFA em ruminantes, sendo utilizada como indicador sensível de processos inflamatórios nessas espécies (ECKERSALL & BELL, 2010). Tem sido investigada em bovinos com salmonelose, nos quais aumentos nas concentrações séricas estiveram positivamente correlacionados com a severidade dos sinais clínicos (DEIGNAN et al. 2000). De fato, no presente estudo, foi a PFA que variou de maneira mais consistente nos animais acometidos pela salmonelose (Tabela 49 e Figura 49). Observou-se aumento significativo nas concentrações médias dos Grupos 2 e 3, com início às 48 horas após a infecção, atingindo pico às 144 e 120 horas, respectivamente. No Grupo 2, o valor máximo atingido foi 476% superior ao basal (0 hora). No grupo que recebeu as aplicações de florfenicol (Grupo 3), a elevação foi de menor magnitude (valor máximo 299% maior em relação ao basal). No grupo sadio (Grupo 1), apesar de notado ligeiro aumento, a concentração desta proteína não variou de forma significativa. Similarmente, os teores de haptoglobina estiveram aumentados 4,3 vezes às 120 horas após infecção experimental com *S. Dublin* em bezerros bubalinos (SANTANA, 2012). Assim, a haptoglobina representa um marcador útil, embora inespecífico, de infecção por *Salmonella* spp em búfalos neonatos.

Mediadores inflamatórios presentes no colostro podem atravessar a mucosa intestinal dos neonatos e estimular a produção hepática de PFAs (ORRO et al. 2008). Esta resposta diminui gradativamente, até que as concentrações de citocinas proinflamatórias tornam-se praticamente indetectáveis por volta de três a quatro semanas de vida. Dessa forma, as alterações temporais nas concentrações das PFAs podem estar associadas ao processo de nascimento e/ou alguns fatores indutores no colostro, e não necessariamente a algum processo patológico. Portanto, deve-se considerar a idade dos bezerros avaliados quando forem utilizadas essas proteínas como marcadores de enfermidades.

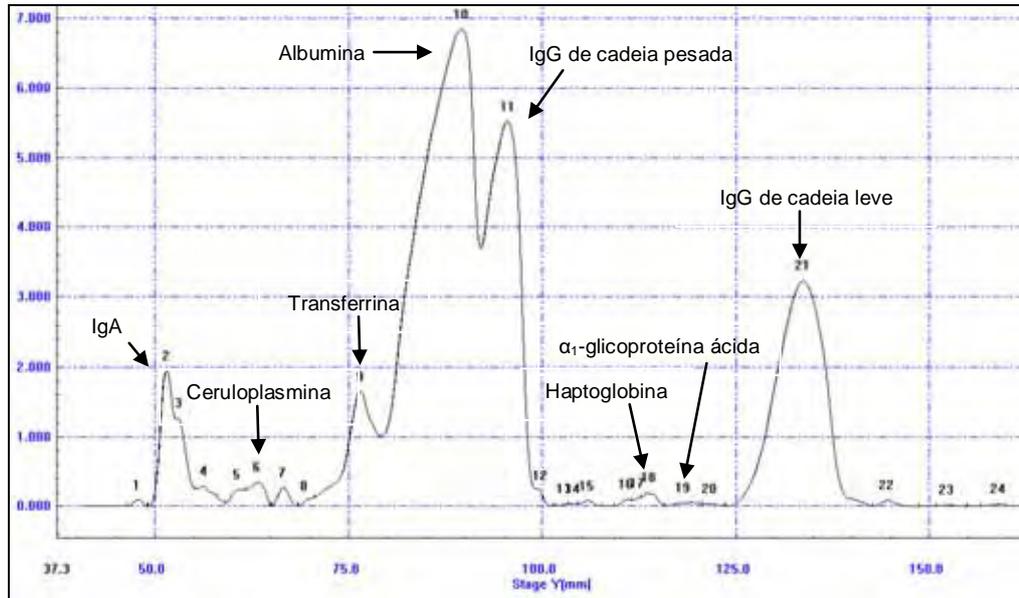


Figura 45. Traçado densitométrico do proteinograma sérico de bezerro bubalino, anteriormente à infecção com *S. Typhimurium*.

Tabela 43. Concentração sérica de **imunoglobulina A** (PM 168.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	412±141 Aa	304 ±61,4 Aa	304 ±184 Aa
24	483±176 Ba	331 ±69,9 Aa	298 ±177 Aa
48	448±156 Ba	346 ±125 ABa	253 ±167 Aa
72	487±260 Ba	344 ±103 Aa	323 ±204 Aa
96	490±161 Ba	351 ±94,6 ABa	268 ±194 Aa
120	452±151 Ba	325 ±111 ABa	291 ±177 Aa
144	416±157 Aa	302 ±106 Aa	387 ±232 Aa
168	455±128 Ba	316 ±112 ABa	295 ±192 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Tabela 44. Concentração sérica de **ceruloplasmina** (PM 111.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	76,5±20,0 Aa	73,8 ±34,2 Ac	80,0±23,7 Aa
24	85,0±29,8 Aa	67,7 ±26,5 Ac	77,2 ±14,5 Aa
48	76,4±14,5 Aa	81,0±30,6 Abc	71,6±10,3 Aa
72	78,3±15,4 Aa	101 ±18,4 Aac	71,4±6,52 Aa
96	74,1±19,5 Ba	125 ±35,6 Aab	79,4 ±27,1 ABa
120	79,6±19,2 Aa	122 ±36,8 Aab	109 ±28,3 Aa
144	80,2±14,7 Ba	131 ±32,6 Aa	109 ±24,6 ABa
168	82,9±17,7 Ba	137 ±37,4 Aa	92,6 ±22,8 ABa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

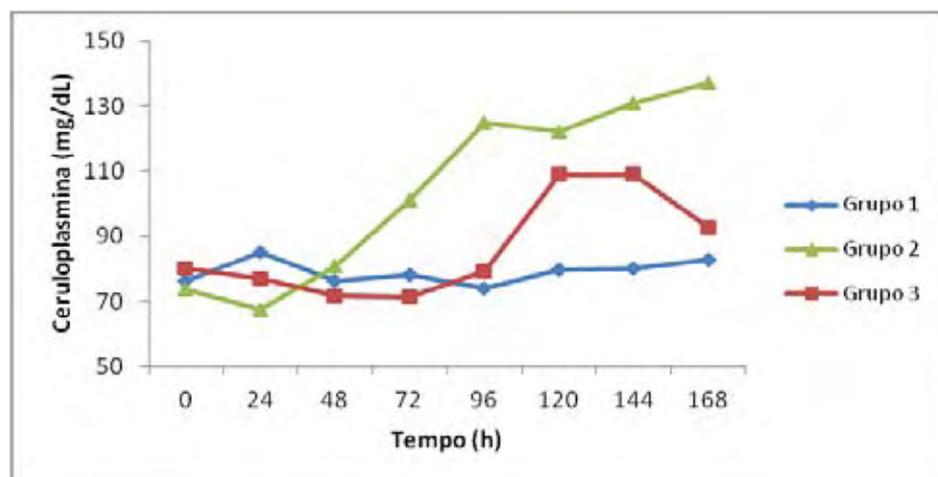


Figura 46. Variação dos valores médios da concentração sérica de **ceruloplasmina** (PM 111.000; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 45. Concentração sérica de **transferrina** (PM 78.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	448±60,6 Aa	564 ±58,2 Aa	594 ± 53,1 Aa
24	437±75,7 Aa	523 ± 159 Aab	511 ± 103 Aa
48	435±118 Aa	509 ±112 Aab	602 ±96,3 Aa
72	427±46,3 Aa	463 ±94,6 Aab	479 ± 126 Aa
96	410±61,8 Aa	417 ± 103 Aab	528 ± 12,1 Aa
120	410±66,6 Aa	447 ±85,7 Aab	492 ±90,3 Aa
144	422±84,4 Aa	446 ±89,6 Aab	470 ± 122 Aa
168	373±75,7 Aa	390 ±68,6 Ab	476 ±92,5 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

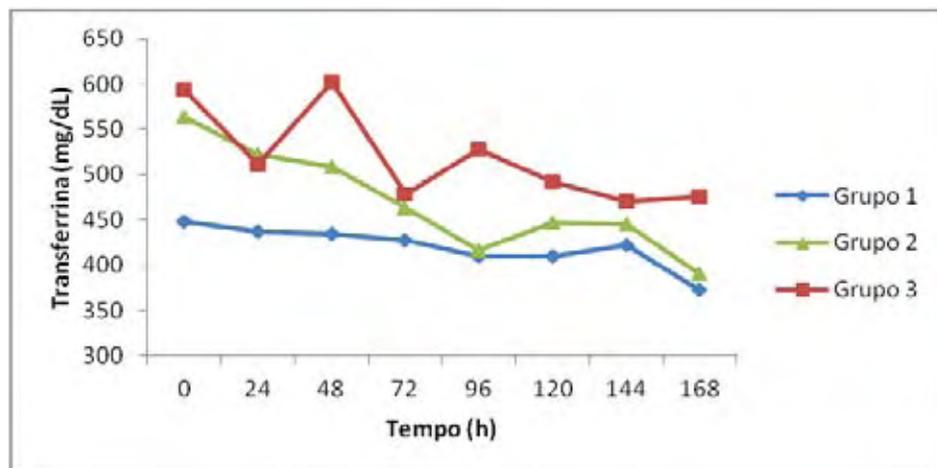


Figura 47. Variação dos valores médios da concentração sérica de **transferrina** (PM 78.000; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 46. Concentração sérica de **albumina** (PM 63.000; média±desvio padrão; mg/dL), obtida pela técnica de eletroforese em SDS-PAGE, em bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	3.963±360 Aa	3.926±255 Aa	4.000±332 Aa
24	3.988±269 Aa	3.902±313 Aa	4.042±450 Aa
48	4.055±497 Aa	3.963±184 Aa	3.945±209 Aa
72	4.081±497 Aa	3.968±430 Aa	4.083±354 Aa
96	3.811±349 Aa	3.801±344 Aa	3.946±459 Aa
120	3.947±391 Aa	3.865±387 Aa	3.917±428 Aa
144	3.986±460 Aa	3.881±325 Aa	3.902±287 Aa
168	3.914±446 Aa	3.650±350 Aa	3.877±246 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Tabela 47. Idade (dias) e concentração sérica de **imunoglobulina G total** (PM 55.000 e 26.000; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) no momento anterior à inoculação (0 hora).

Grupos	Animais	Idade	Imunoglobulina G total
Grupo 1	1	11	3.117
	2	22	1.198
	3	24	1.154
	4	22	1.678
	5	12	2.199
Grupo 2	1	10	3.368
	2	12	1.388
	3	14	1.556
	4	14	2.730
	5	18	777
Grupo 3	1	10	2.531
	2	12	1.967
	3	14	1.328
	4	18	945
	5	27	691

Tabela 48. Concentração sérica de **imunoglobulina G total** (PM 55.000 e 26.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	1.869±816 Aa	1.964±1.056Aa	1.892±754 Aa
24	1.871±893 Aa	1.897±1.068Aab	1.793±732 Aa
48	1.805±801 Aab	1.782±999 Aabc	1.781±630 Aa
72	1.730±726 Aab	1.731±921 Aabcd	1.768±650 Aa
96	1.692±709 Aab	1.632±924 Abe	1.743±617 Aa
120	1.551±725 Ab	1.512±840 Ace	1.710±581 Aa
144	1.575±772 Ab	1.455±776 Ade	1.736±586 Aa
168	1.535±714 Ab	1.415±691 Ae	1.662±640 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

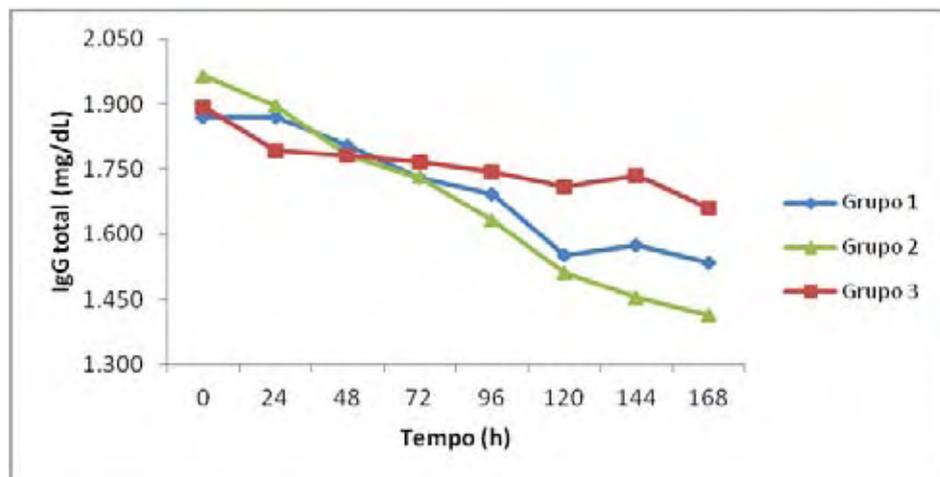


Figura 48. Variação dos valores médios da concentração sérica de **imunoglobulina G total** (PM 55.000 e 26.000; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 49. Concentração sérica de **haptoglobina** (PM 35.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	17,9±8,56 Aa	37,3±39,2 Ad	36,1±27,8 Aab
24	23,3±8,53 Aa	30,8±29,6 Acd	27,0±23,1 Ab
48	33,6±25,8 Aa	50,5±33,9 Abd	40,3±32,8 Aab
72	37,0±30,4 Aa	119±70,3 Aabc	54,3±31,9 Aab
96	41,1±33,3 Aa	180±75,5 Aab	102±21,6 Aab
120	53,3±57,8 Ba	198±73,7 Aab	144±37,6 ABa
144	66,6±65,6 Aa	215±86,5 Aa	139±56,9 Aa
168	61,5±48,3 Aa	177±76,5 Aab	118±77,2 Aab

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

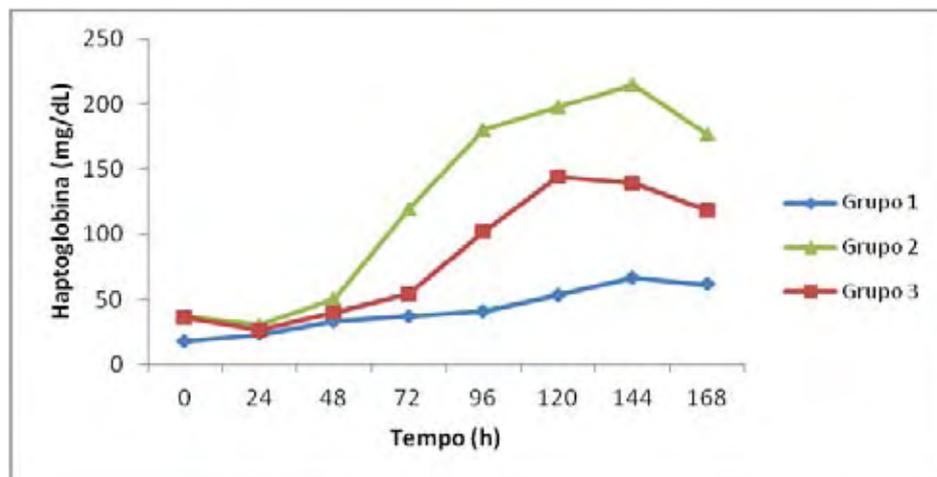


Figura 49. Variação dos valores médios da concentração sérica de **haptoglobina** (PM 35.000; mg/dL) de bezerros bubalinos saudáveis (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tabela 50. Concentração sérica de **glicoproteína ácida** (PM 33.000; média±desvio padrão; mg/dL) de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10⁹ UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10⁹ UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3) antes da inoculação (0 hora) e às 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas seguintes.

Tempo (h)	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0	4,84±4,89 Aa	6,73±3,78 Aa	3,56±2,66 Aa
24	9,47±2,25 Aa	6,87±4,14 Aa	5,06±4,15 Aa
48	6,30±6,10 Aa	5,31±0,52 Aa	5,47±2,81 Aa
72	8,81±8,25 Aa	5,47±1,56 Aa	5,82±2,21 Aa
96	5,14±3,55 Aa	7,42±7,41 Aa	4,40±2,37 Aa
120	6,35±4,53 Aa	3,42±2,28 Aa	5,15±1,70 Aa
144	4,63±4,09 Aa	3,64±2,10 Aa	4,27±0,57 Aa
168	5,36±4,23 Aa	4,19±3,04 Aa	3,36±1,62 Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

5.5 Isolamento bacteriológico

5.5.1 Detecção de *S. Typhimurium* a partir de suabes retais

Nas Tabelas 51 e 52, são apresentados os resultados do isolamento bacteriológico a partir das amostras de fezes obtidas pelos suabes retais, nos três caldos de enriquecimento seletivo utilizados.

Todos os animais incluídos no experimento foram negativos para *Salmonella* spp ao exame bacteriológico das fezes pré-inoculação. Os animais do grupo controle (Grupo 1), permaneceram sem eliminar a bactéria durante toda a fase experimental. Entre os bezerros que receberam inóculo contendo 10⁹ UFC de *S. Typhimurium*, o isolamento dessa bactéria a partir das amostras de fezes iniciou-se entre as 24 e 72 horas após a inoculação no Grupo 2, e entre as 24 e 96 horas no Grupo 3, sendo a excreção pelos animais detectada de forma contínua ou intermitente (Tabelas 51 e 52). Todos os bezerros que receberam o inóculo excretaram a bactéria em algum momento do período experimental.

A eliminação fecal de *Salmonella Typhimurium* foi detectável pelo isolamento bacteriológico por até 16 dias (384 horas) pós-inoculação no Grupo 2 (Animal 1). Já nos bezerros que receberam a administração de florfenicol às 96 e às 144 horas após a infecção (Grupo 3), observou-se a interrupção da detecção bacteriana após a aplicação

do medicamento, com exceção do animal 2, no qual a detecção ocorreu até o 8º dia pós-inoculação (192 horas) e, posteriormente, do 12º ao 22º dia.

O exame bacteriológico das fezes foi realizado até que cada animal completasse 15 dias consecutivos de negatividade, nos três meios de enriquecimento seletivo (RADOSTITS et al. 2007).

Tanto as amostras de *Salmonella* Typhimurium utilizadas no preparo do inóculo quanto as isoladas a partir dos suabes retais dos bezerros infectados, apresentaram padrões idênticos de susceptibilidade aos antimicrobianos testados, sendo sensíveis ao ceftiofur, cloranfenicol, florfenicol e trimetoprim/sulfametoxazol e resistentes à ampicilina, doxiciclina, eritromicina, gentamicina, ácido nalidíxico e tetraciclina, indicando origem comum das bactérias.

Considerando-se os resultados obtidos nas avaliações clínicas e na microbiologia, alguns animais pertencentes aos Grupos 2 e 3 excretaram a bactéria mesmo quando já se encontravam clinicamente recuperados da salmonelose. Esse fato caracteriza esses animais como portadores ativos, que são aqueles que eliminam o agente nas fezes como consequência de um quadro de enterite clínica. Já o animal do Grupo 3 que eliminou salmonelas pelas fezes, mas não manifestou sinais clínicos de salmonelose, pode ser caracterizado com portador passivo (JONES et al. 2008). Por outro lado, JONES et al. (2008) afirmam que, embora a recuperação da doença seja lenta e salmonelas sejam isoladas em bezerros por até seis meses após a infecção inicial, estes não parecem se tornar portadores de *S. Typhimurium* e, por conseguinte, adultos infectados.

Em seu estudo, SANTANA (2012) detectou que bezerros bubalinos excretaram *S. Dublin* nas fezes até 16 dias após a inoculação oral.

Embora a aplicação de florfenicol tenha provocado interrupção da detecção bacteriana nas fezes na maioria dos animais tratados (4/5), em 1/5 houve prolongamento do tempo de eliminação, em comparação com os animais que não receberam a antibioticoterapia (Grupo 2). Esse achado reforça a ideia apresentada por JONES et al. (2008) de que, na medicina humana, há mais de 40 anos não se recomenda antibioticoterapia em casos de gastroenterite não complicada por

salmonelas, por não abreviar o curso clínico da infecção e, com frequência, prolongar o período de excreção da bactéria após a convalescença. Resultados muito similares aos do presente estudo foram obtidos por SILVA (2007), ÁVILA (2009) e SANTANA (2012), com o mesmo antibiótico, e por FECTEAU et al. (2003), com ceftiofur. Embora o florfenicol atinja bons níveis intracelulares, é possível que não tenham sido mantidas por período suficiente concentrações acima da concentração mínima inibitória (CMI) para a cepa de *S. Typhimurium* utilizada. A dose de florfenicol utilizada no experimento (20mg/Kg) foi a recomendada pelo fabricante e estabelecida para bovinos para combate principalmente de patógenos respiratórios. Tal dose administrada por via intramuscular provoca, em bezerros bovinos, concentrações plasmáticas máximas de florfenicol de $2,12 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$ em aproximadamente quatro horas, com vida de eliminação terminal média ($T_{1/2}$) de 27 horas (MAHMOUDIAN et al. 2010). Sugerem-se, portanto, estudos aprofundados na farmacocinética do florfenicol em búfalos neonatos, visando adequação da posologia (especialmente da dose e frequência de administração) quando a finalidade for combater especificamente enteropatógenos nessa espécie e nessa faixa etária.

Tabela 51. Detecção de *S. Typhimurium* pelo exame bacteriológico a partir de **suabes retais** obtidos de bezerros bubalinos infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (**Grupo 2**), do momento anterior à inoculação (0h) até o último dia de positividade.

Tempo (h)	Animal														
	1			2			3			4			5		
	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
48	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
72	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
96	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
120	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
144	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
168	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
192	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+
216	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+
240	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
288	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
336	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
384	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	5	9	4	2	0	5	3	5	3	6	7	6	6	7	9

RV= Rappaport-Vassiliadis; SC=selenito cistina; TMK=tetrionato Muller-Kauffmann; -=negativo; +=positivo

Tabela 52. Detecção de *S. Typhimurium* pelo exame bacteriológico a partir de **suabes retais** obtidos de bezerros bubalinos infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (**Grupo 3**), do momento anterior à inoculação (0h) até o último dia de positividade.

Tempo (h)	Animal														
	1			2			3			4			5		
	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
48	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
72	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
96	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
120	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
144	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+
168	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
192	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
216	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
240	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
288	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
336	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
384	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
456	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
528	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	0	1	1	10	9	5	2	3	1	3	3	3	6	5	6

RV= Rappaport-Vassiliadis; SC=selenito cistina; TMK=tetrionato Muller-Kauffmann; -=negativo; +=positivo

5.5.2 Detecção de *S. Typhimurium* a partir de amostras de órgãos

Com a repetição do resultado negativo no isolamento bacteriológico nos três caldos de enriquecimento por 15 dias consecutivos, os animais foram liberados do experimento ou submetidos à eutanásia, para avaliação bacteriológica e patológica dos órgãos. Foi eutanasiado também um animal do Grupo 1, como animal controle. O animal 3 do Grupo 3, que veio a óbito de forma natural 25 dias após ser liberado do experimento e sem estar manifestando sinais de salmonelose, também foi submetido aos exames bacteriológico e patológico dos órgãos.

Na Tabela 53, são apresentados os resultados do isolamento bacteriológico a partir das amostras de órgãos, nos três caldos de enriquecimento seletivo utilizados. *S. Typhimurium* foi detectada nos linfonodos mesentéricos dos três animais do Grupo 2, sendo que em um deles a bactéria foi isolada também a partir da amostra de intestino grosso e, em outro, a partir das amostras de tonsilas. Dos quatro animais que receberam a administração do antibiótico florfenicol (Grupo 3), um apresentou a bactéria nas tonsilas (Animal 2), um nos linfonodos mesentéricos (Animal 4) e outro em ambos (Animal 5). Não se isolou salmonela nos órgãos do animal controle (Animal 1, Grupo 1) nem do animal que morreu naturalmente (Animal 3, Grupo 3). No entanto, a coleta das amostras de órgãos deste último não foi feita imediatamente após o óbito, que ocorreu durante a madrugada. Este fato pode ter influenciado negativamente no isolamento bacteriológico, uma vez que as amostras para este exame devem ser coletadas em no máximo até seis horas após o óbito (SILVA, 2007).

Assim como nas amostras de fezes, todas as salmonelas isoladas das amostras de órgãos apresentaram o mesmo padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos que a cepa utilizada para o inóculo, sendo sensíveis ao ceftiofur, cloranfenicol, florfenicol e trimetoprim/sulfametoxazol e resistentes à ampicilina, doxiciclina, eritromicina, gentamicina, ácido nalidíxico e tetraciclina, indicando origem comum das bactérias.

Os achados acima caracterizam todos os animais infectados que foram eutanasiados (exclui-se aqui o animal que veio a óbito naturalmente) como portadores latentes de *S. Typhimurium*, por abrigarem a bactéria em outros tecidos ou no trato alimentar, sem excretá-la nas fezes. Isso representa um fator epidemiológico

importante, uma vez que fatores estressantes podem reativar a eliminação por parte destes animais, disseminando salmonelas no ambiente (JONES et al. 2008). Resultados semelhantes são descritos por SANTANA (2012) em bezerros bubalinos infectados com *Salmonella* Dublin. Como a salmonela é um microrganismo intracelular facultativo, pode sobreviver e se multiplicar dentro de macrófagos, sendo subsequentemente transportada aos linfonodos mesentéricos e a outros órgãos (WRAY & DAVIES, 2000).

O tratamento com florfenicol não foi capaz de eliminar completamente as salmonelas dos tecidos dos animais do Grupo 3, reforçando a ideia já mencionada de adequação da posologia para uso em bezerros bubalinos com salmonelose.

Tabela 53. Detecção de *S. Typhimurium* a partir de amostras de **órgãos** obtidos de bezerros bubalinos sadios (Grupo 1), infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* (Grupo 2) e infectados com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e tratados com florfenicol (Grupo 3).

Órgão	Grupo 1			Grupo 2			Grupo 3									
	Animal 1			Animal 3			Animal 2		Animal 3		Animal 4		Animal 5			
	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	RV	SC	TMK	
Tonsilas	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
Linf. mandibulares	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pulmões	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fígado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Baço	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Duodeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jejuno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Íleo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Linf. mesentéricos	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Intestino grosso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rins	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	0	0	0	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	0	2

RV= Rappaport-Vassiliadis; SC=selenito cistina; TMK=tetrionato Muller-Kauffmann; -=negativo; +=positivo

5.5.3 Comparação da eficiência dos caldos de enriquecimento

O isolamento bacteriológico possibilitou a detecção de 64 amostras de fezes positivas para *S. Typhimurium* (Tabela 54). Das amostras positivas, os meios de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis (RV), selenito cistina (SC) e tetrionato Muller-Kauffmann (TMK), identificaram, respectivamente, 43 (67,2%), 49 (76,6%) e 43 (67,2%).

Das amostras de órgãos examinadas, identificaram-se 9 positivas para *S. Typhimurium* (Tabela 54). Entre as positivas, o caldo RV detectou 6 (66,7%) amostras, o SC detectou 5 (55,5%) e o TMK detectou 8 (88,9%).

Pelo teste de McNemar, não houve superioridade de um caldo em relação ao outro na identificação de amostras positivas para *S. Typhimurium*, tanto dos suabes retais quanto dos órgãos ($P > 0,05$). No entanto, o uso simultâneo dos três caldos de enriquecimento aumentou as chances de detecção da bactéria no isolamento bacteriológico em ágar XLT4.

A concordância entre os caldos RV e SC foi considerada boa pelo teste estatístico Kappa (0,64 no exame das fezes e 0,71 no exame dos órgãos), da mesma forma que entre os meios RV e TMK (0,62 no exame das fezes e 0,84 no dos órgãos) e entre TMK e SC (0,61 no exame das fezes e 0,58 no dos órgãos).

Por outro lado, estudo semelhante envolvendo a detecção de *S. Dublin* em bezerros bubalinos (SANTANA, 2012), encontrou superioridade de eficiência do caldo TMK, em relação ao RV e SC.

Tabela 54. Detecção de *S. Typhimurium* pelo isolamento bacteriológico associados aos meios de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis (RV), selenito cistina (SC) e tetrionato Muller-Kauffmann (TMK) em amostras de suabes retais e de órgãos de bezerros bubalinos após a infecção experimental com 10^9 UFC (Grupos 2 e 3).

Amostra	Número de amostras positivas para <i>S. Typhimurium</i>			Total de amostras examinadas
	RV	SC	TMK	
Fezes	43 ^A	49 ^A	43 ^A	168
Órgãos	6 ^A	5 ^A	8 ^A	77

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de McNemar ($P > 0,05$).

5.6 Exame anatomopatológico

O bezerro do Grupo 1 (controle) não apresentou alterações características de salmonelose ao exame anatomopatológico.

À necropsia, o animal 1 do Grupo 2, eutanasiado aos 33 dias pós-infecção, apresentou linfadenomegalia mesentérica, serosa dos intestinos de coloração avermelhada e jejuno com moderada hiperemia de mucosa e conteúdo do tipo catarral. No exame histopatológico, encontrou-se congestão moderada no baço e congestão discreta na mucosa intestinal.

O animal 3 do Grupo 2 foi eutanasiado 27 dias após a inoculação com *S. Typhimurium*. Seu exame necroscópico revelou linfadenomegalia mesentérica, serosa dos intestinos hiperêmica (Figura 50A), jejuno com mucosa intensamente hiperêmica (Figura 50B), presença de uma forma adulta de *Neoascaris vitulorum* e conteúdo catarral no íleo. Microscopicamente, observou-se reatividade de tonsila (Figura 51A) e, no intestino delgado, necrose de vilosidades com intenso infiltrado mononuclear, composto predominantemente por macrófagos, e congestão moderada de mucosa (Figura 51B). Encontrou-se também congestão discreta de baço e de intestino grosso.

A avaliação necroscópica do quarto animal do Grupo 2, realizada no 27º dia experimental, revelou linfadenomegalia mesentérica, serosa do intestino delgado avermelhada e mucosa do jejuno moderadamente hiperêmica. Ao exame histopatológico, encontrou-se congestão discreta no intestino.

As lesões macroscópicas encontradas no animal 2 do Grupo 3, avaliadas no 42º dia após a inoculação, foram: intensa hiperemia da mucosa da vesícula biliar; conteúdo catarral e mucosa hiperêmica na porção inicial e final do jejuno; leve hiperemia e espessamento do íleo (Figura 50C); linfonodos mesentéricos aumentados e com cortical espessada. Ao exame histopatológico, a mucosa da vesícula biliar estava hiperêmica, com intenso infiltrado inflamatório linfocítico difuso e áreas com perda de epitélio, caracterizando uma colecistite crônica severa (Figura 51C). O intestino delgado apresentou congestão e infiltrado linfocítico discretos na submucosa, próprios de uma

enterite crônica discreta. Encontrou-se também reatividade linfoide em linfonodo mesentérico e congestão moderada no tecido esplênico.

O terceiro animal do Grupo 3, que veio a óbito de forma natural, 46 dias após a inoculação, apresentou anemia, sinais de caquexia e pneumonia subaguda. As lesões observadas no sistema digestório incluíram vesícula biliar distendida e duodeno com mucosa discretamente avermelhada e conteúdo catarral. Na mucosa do jejuno, verificaram-se áreas focais moderadamente hiperêmicas. A válvula íleo-cecal também apresentou-se avermelhada. O exame microscópico revelou hemossiderose e congestão discreta no baço. No intestino delgado, encontrou-se congestão discreta, área focal com necrose das vilosidades e discreto infiltrado inflamatório composto por macrófagos, linfócitos e plasmócitos na submucosa, caracterizando uma enterite crônica discreta. Observou-se ainda, linfonodo mesentérico reativo e congestão discreta do intestino grosso.

O exame necroscópico do animal 4 do grupo que recebeu tratamento a base de florfenicol (Grupo 3), realizado no 22º dia experimental, revelou mucosa da vesícula biliar hiperêmica (Figura 50D) e linfadenomegalia mesentérica. A serosa dos intestinos apresentou-se um pouco avermelhada. Nas três porções do intestino delgado, encontraram-se mucosas avermelhadas, conteúdo catarral e presença de formas adultas de *Neoascaris vitulorum*. O intestino grosso apresentou discreta hiperemia de mucosa. Microscopicamente, os achados foram: perda do epitélio tonsilar; mucosa da vesícula biliar hiperêmica com intenso infiltrado inflamatório linfocítico difuso, própria de uma colecistite crônica severa; e discreta congestão no tecido esplênico. Os linfonodos mesentéricos estavam reativos (Figura 51D). No intestino delgado, encontrou-se congestão e infiltrado inflamatório mononuclear discretos, caracterizando uma enterite crônica discreta.

A avaliação necroscópica do animal 5 do Grupo 3, que foi sacrificado ao 22 dias de ter recebido inóculo contendo 10^9 UFC de *S. Typhimurium*, revelou vesícula biliar com mucosa bastante hiperêmica e linfadenomegalia mesentérica. No intestino delgado, serosa avermelhada e mucosa das três porções intensamente hiperêmicas,

com conteúdo catarral e presença de *Neoascaris vitulorum*. No exame histológico, verificou-se congestão moderada e discreta hiperplasia de polpa branca do baço e linfonodo mesentérico reativo e com edema moderado. Diagnosticou-se uma enterite crônica, encontrando-se congestão moderada dos vasos na mucosa intestinal, discreto infiltrado inflamatório linfoplasmocitário na submucosa e uma área de hiperplasia de células caliciformes, com discreto infiltrado eosinofílico.

Embora o exame anatomopatológico tenha sido feito dias após a recuperação clínica dos animais, ainda foram constatadas alterações, que confirmam as descritas pela literatura. São relatados como achados pós-morte típicos em animais sofrendo da forma entérica da salmonelose, colecistite fibrinosa, linfonodos mesentéricos edemaciados e congestos, enterite muco-hemorrágica ou muconecrótica e conteúdo intestinal aquoso contendo fibrina (CARLTON & McGAVIN, 1998; WRAY & DAVIES, 2000; SMITH, 2010). As mucosas do íleo e intestino grosso podem estar engrossadas e hemorrágicas com placas fibrinonecroticas aderidas, sendo que duodeno e jejuno também podem estar afetados (SMITH, 2010).

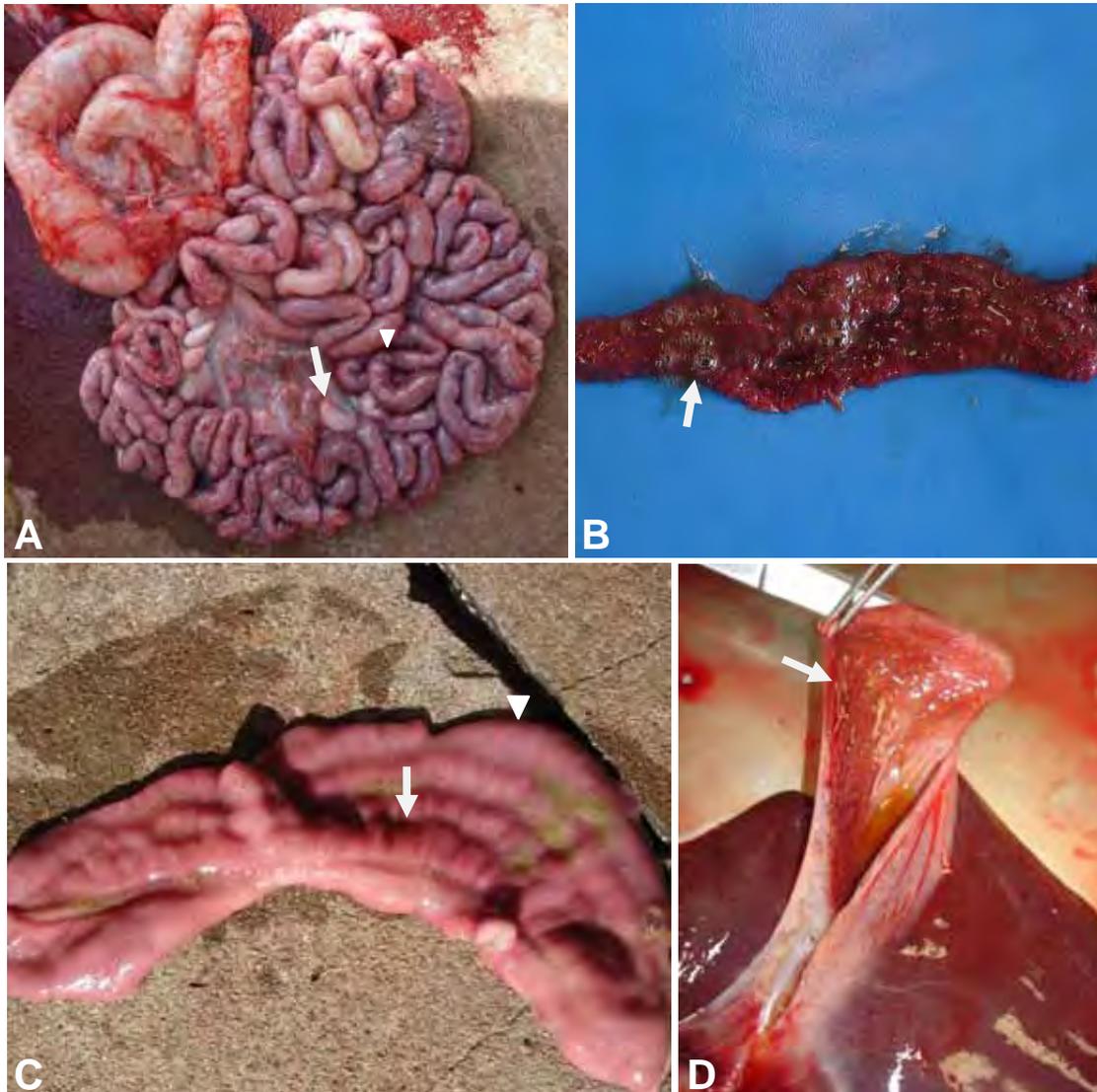


Figura 50. Alterações macroscópicas em bezerros bubalinos infectados experimentalmente com 10^9 UFC de *S. Typhimurium*. (A) Intestino delgado do animal 3 do Grupo 2, aos 27 dias após a inoculação. Notar serosa hiperêmica (cabeça de seta) e linfonodos mesentéricos aumentados (seta). (B) Mucosa de jejuno do animal 3 do Grupo 2, aos 27 dias após a inoculação. Notar intensa hiperemia por todo o fragmento e presença de conteúdo catarral (seta). (C) Fragmento de íleo do animal 2 do Grupo 3, aos 42 dias após a inoculação. Notar espessamento (cabeça de seta) e leve hiperemia de mucosa (seta). (D) Vesícula biliar do animal 4 do Grupo 3, aos 22 dias após a inoculação. Notar mucosa hiperêmica (seta).

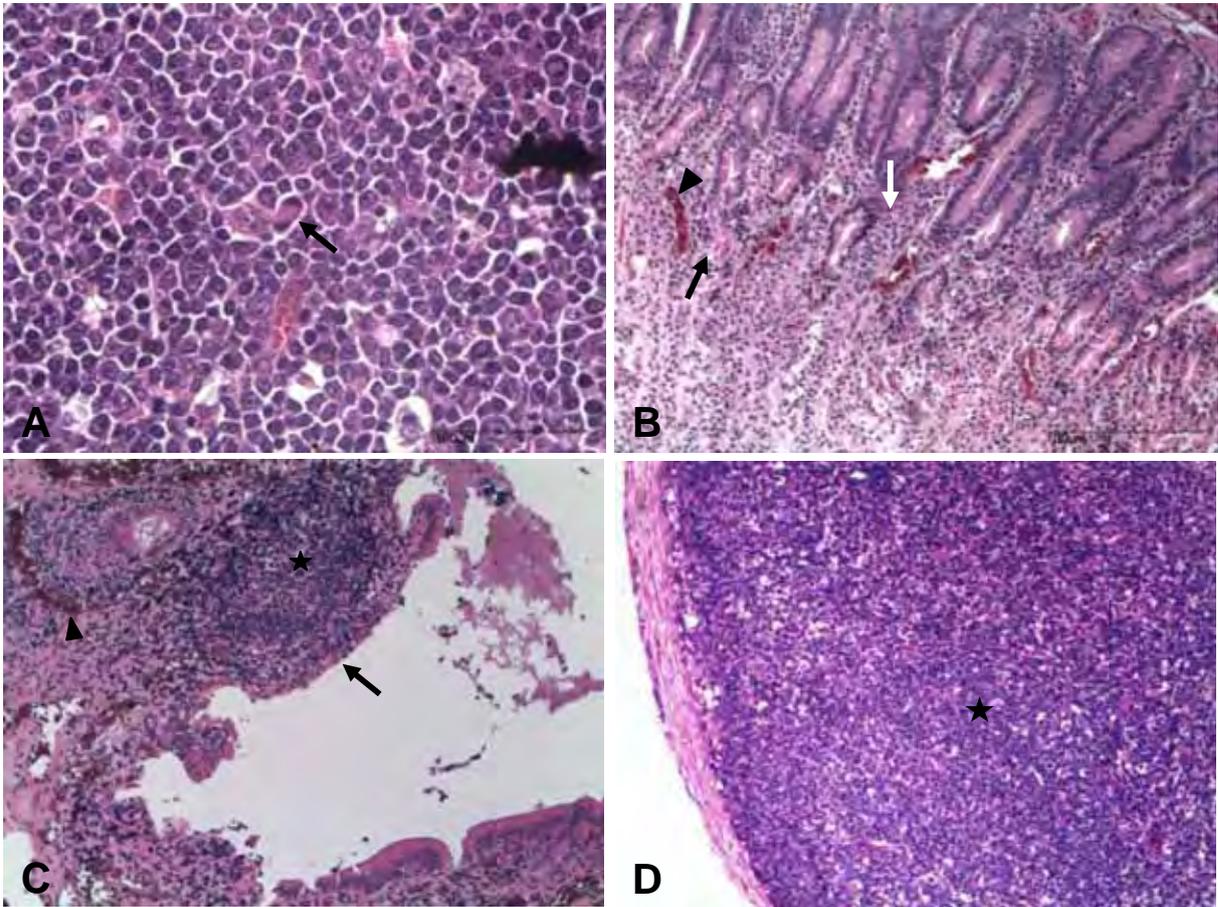


Figura 51. Fotomicrografias demonstrando as principais alterações observadas ao exame histopatológico de bezerros bubalinos infectados experimentalmente com 10^9 UFC de *S. Typhimurium*. (A) Tonsila do animal 3 do Grupo 2, aos 27 dias após a inoculação. Notar reatividade evidenciada pela figura de mitose (seta). Coloração Hematoxilina e Eosina. Objetiva 40x. (B) Intestino delgado animal 3 do Grupo 2, aos 27 dias após a inoculação. Notar necrose de vilosidades (seta preta), intenso infiltrado mononuclear (seta branca) e congestão moderada a intensa na mucosa (cabeça de seta). Coloração Hematoxilina e Eosina. Objetiva 10x. (C) Vesícula biliar do animal 2 do Grupo 3, aos 42 dias após a inoculação. Notar áreas com perda de epitélio (seta preta), infiltrado inflamatório (estrela) e hiperemia (cabeça de seta). Coloração Hematoxilina e Eosina. Objetiva 10x. (D) Linfonodo mesentérico do animal 4 do Grupo 3, aos 22 dias após a inoculação. Notar reatividade linfoide na região cortical (estrela). Coloração Hematoxilina e Eosina. Objetiva 10x.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir da inoculação experimental de bezerros bubalinos com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* no presente estudo permitem as seguintes conclusões:

- A infecção experimental resultou em manifestação clínica da doença com sinais predominantemente entéricos.

- A infecção provocou alterações laboratoriais, que indicaram início de acidose metabólica e de anemia da inflamação, redução da caemia, hipoglicemia, azotemia pré-renal, hipoferremia e resposta inflamatória caracterizada por aumento de proteínas de fase aguda e alterações do leucograma. De modo geral, estas alterações foram mais evidentes nos animais que não receberam tratamento com florfenicol.

- O tratamento com o antibiótico florfenicol, na posologia utilizada neste estudo, não reduziu o tempo de diarreia nem contribuiu epidemiologicamente no combate à *S. Typhimurium*.

- Bezerros bubalinos se tornaram portadores ativos, passivos ou latentes de *S. Typhimurium*.

- Não houve superioridade entre os caldos de enriquecimento RV, SC e TMK no isolamento de *S. Typhimurium* a partir de amostras de fezes e órgãos dos bezerros bubalinos. O uso simultâneo dos três caldos aumentou as chances de detecção da bactéria.

7. REFERÊNCIAS

AHMADI, M.; DALIRNAGHADEH, B.; ASKI, H. S.; KHOSHBAKHT, R. Comparison of polymerase chain reaction (PCR) and conventional cultivation methods for detection of carriers of *Salmonella* spp in cattle and buffalo. **Comp. Clin. Pathol.**, Guildford, v. 19, n. 3, p. 251-255, 2010.

ÁVILA, L. G. **Estudo clínico, laboratorial e terapêutico da diarreia experimental em bezerros induzida por *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Typhimurium**. 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

BACHA, W. J.; BACHA, L. M. **Color atlas of veterinary histology**. 2. ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 318 p.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JR, W. AgroEstat - Sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos, versão 1.1.0.694, 2011.

BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, Philadelphia, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C., TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.**, Hangerstown, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BEREND, K.; VAN HULSTEIJN, L. H.; GANS, R. O. B. Chloride: the queen of electrolytes? **Eur. J. Intern. Med.**, Amsterdam, v. 23, n. 3, p. 203-211, 2012.

BOONMAR, S.; MARKVICHITR, K.; CHAUNCHOM, S.; CHANDA, C.; BANGTRAKULNONTH, A.; PORNRUNANGWONG, S.; YAMAMOTO, S.; SUZUKI, D.; KOZAWA, K.; KIMURA, H.; MORITA, Y. *Salmonella* prevalence in slaughtered buffaloes

and pigs and antimicrobial susceptibility of isolates in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. **J. Vet. Med. Sci.**, Tokyo, v. 70, n. 12, p. 1345–1348, 2008.

CAMBIER, C.; CLERBAUX, T.; MOREAUX, B.; DETRY, B.; BEERENS, D.; FRANS, A.; GUSTIN, P. Blood oxygen binding in calves with naturally occurring diarrhea. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 62, n. 5, p. 799-804, 2001.

CARLSON, G. P. Pruebas de química clínica. In: SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animales**. 4. ed. Barcelona: Elsevier, 2010. cap. 22, p. 375-397.

CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. 672 p.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**: approved standard M31-A3. 3. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008. 99 p.

CONSTABLE, P. D.; GOHAR, M.; MORIN, D. E. Use of hypertonic saline dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 57, n. 1, p. 97-104, 1996.

CUMMINGS, K. J.; WARNICK, L. D.; ALEXANDER, K. A.; CRIPPS, C. J.; GRÖHN, Y. T.; JAMES, K. L.; McDONOUGH, P. L.; REED, K. E. The duration of fecal *Salmonella* shedding following clinical disease among dairy cattle in the northeastern USA. **Prev. Vet. Med.**, Amsterdam, v. 92, n. 1-2, p. 134–139, 2009.

DAS, S. K.; UPADHYAY, R. C.; MADAN, M. L. Heat stress in Murrah buffalo calves. **Livest. Prod. Sci.**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 71-78, 1999.

DEIGNAN, T.; ALWAN, A.; KELLY, J.; McNAIR, J.; WARREN, T.; O'FARRELLY, C. Serum haptoglobin: an objective indicator of experimentally-induced *Salmonella* infections in calves. **Res. Vet. Sci.**, London, v. 69, n. 2, p. 153-158, 2000.

DOWLING, P. M. Chloramphenicol, thiamphenicol, and florfenicol. In: GIGUÈRE, S.; PRESCOTT, J. F.; BAGGOT, J. D.; WALKER, R. D.; DOWLING, P. M. **Antimicrobial therapy in veterinary medicine**, 4. ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006. cap. 15, p. 241-248.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **Vet. J.**, Oxford, v. 185, n. 1, p. 23-27, 2010.

FAGIOLO, A.; RONCORONI, C.; LAI, O.; BORGHESE, A. Buffalo pathologies. In: BORGHESE, A. **Buffalo production and research**, 1. ed. Roma: FAO, 2005. cap. 13, p. 249-296.

FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 253-262, 1998.

FAGLIARI, J. J.; WEISS, D. J.; McCLENANHAN, D.; EVANSON, O. A. Serum protein concentrations in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p. 383-387, 2003.

FAGLIARI, J. J.; RIZOLLI, F. W.; SILVA, S. L.; SILVA, D. G. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 450-453, 2006.

FAGLIARI, J.; SAQUETTI, C.; COSTA, N.; CLEMENTE, V.; SILVA, P. Serum acute phase protein concentrations in cows and bufaloes submitted to laparotomy, treated or not with phenylbutazone. In: WORLD BUIATRIC CONGRESS, 26., 2010, Santiago. Disponível em: <<http://www.kenes.com/buiatrics/cd/pdf/1181.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2011.

PECTEAU, M. E.; HOUSE, J. K.; KOTARSKI, S. F.; TANKERSLEY, N. S.; ONTIVEROS, M. M.; ALCANTAR, C. R.; SMITH, B. P. Efficacy of ceftiofur for treatment of

experimental salmonellosis in neonatal calves. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 64, n. 7, p. 918- 925, 2003.

FEITOSA, F. L. F.; BORGES, A. S.; BENESI, F. J.; BIRGEL, E. H.; MENDES, L. C. N.; PEIRO, J. R. Concentração de imunoglobulinas G e M no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa até os 90 dias de idade. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 40, supl. 1, p. 26-31, 2003.

FEITOSA, F. L. F. Exame físico geral ou de rotina. In: _____. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico: cães, gatos, eqüinos, ruminantes e silvestres**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. cap. 4, p. 65-86.

FERNANDES, A. C.; BERCHIERI JR, A., OLIVEIRA, G. H.; PEREIRA, G. T. Avaliação de meios de cultivo para o isolamento de *Salmonella*. **Ars Vet.**, Jaboticabal, v. 20, n. 3, p. 330-337, 2004.

FETTMAN, M. J. Metabolismo de fluidos e eletrólitos. In: THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007. cap. 22, p. 311-334.

FREITAS, M. D. **Avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais de bezerras com diarreia neonatal naturalmente adquirida**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

FREITAS, M. D.; FERREIRA, M. G.; FERREIRA, P. M.; CARVALHO, A. U.; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B.; FACURY FILHO, E. J. Equilíbrio eletrolítico e ácido-base em bovinos. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 12, p. 2608-2615, 2010.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de hematologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2005. 206 p.

GRAHAM, S. L.; BARLING, K. S.; WAGHELA, S.; SCOTT, H. M.; THOMPSON, J. A. Spatial distribution of antibodies to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium O antigens in bulk milk from Texas dairy herds. **Prev. Vet. Med.**, Amsterdam, v. 69, n. 1-2, p. 53-61, 2005.

GRIMONT, P. A. D.; GRIMONT, F.; BOUVET, P. Taxonomy of the genus *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. Oxon: CABI Publishing, 2000. cap. 1, p. 1-17.

GRODZKI, K.; LECHOWSKI, R.; LENARCIK, M. The biochemical profile of calves' liver in the course of diarrhea during the first 10 days of life. **Pol. Arch. Weter.**, Warsaw, v. 31, n. 3-4, p. 49-63, 1991.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of medical physiology**. 11. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. 1116 p.

HARA-KUDO, Y., KUMAGAI, S., MASUDA, T., GOTO, K., OHTSUKA, K., MASAKI, H., TANAKA, H., TANNO, K., MIYAHARA, M., KONUMA, H. Detection of *Salmonella enteritidis* in shell and liquid eggs using enrichment and plating. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v. 64, n. 3, p. 395-399, 2001.

HELLMAN, N. E.; GITLIN, J. D. Ceruloplasmin metabolism and function. **Annu. Rev. Nutr.**, Palo Alto, v. 22, p. 439-458, 2002.

HORADAGODA, N. U.; HODGSON, J. C.; MOON, G. M.; WIJewardana, T. G.; ECKERSALL, P. D. Role of endotoxin in the pathogenesis of haemorrhagic septicaemia in the buffalo. **Microb. Pathog.**, London, v. 30, n. 3, p. 171-178, 2001.

HUMPHREY, T. Public health aspects of *Salmonella enterica* in food production. In: MASTROENI, P.; MASKELL, D. **Salmonella infections: clinical, immunological and molecular aspects**. Cambridge: Cambridge University Press, 2006. cap. 4, p. 89-116.

JONES, P. W.; WATSON, P. R.; WALLIS, T. S. Salmonelose. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. cap. 15, p. 189-202.

JURADO, R. L. Iron, infections, and anemia of inflammation. **Clin. Infect. Dis.**, Cary, v. 25, n. 4, p. 888-895, 1997.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. Burlington: Academic Press, 2008. 916 p.

KHAN, A.; KHAN, M. Z. Bacteria isolated from natural cases of buffalo and bovine neonatal calf diarrhoea, pneumonia and pneumoenteritis. **Vet. Arhiv.**, Zagreb, v. 67, n. 4, p. 161-167, 1997.

KIRK, J.; ATWILL, E.; HOLMBERG, C.; ARANA, M.; COLLAR, C.; GHIRARDELLI, D.; HIGGINBOTHAM, G.; MARKAGAARD, G.; MULLINAX, D.; WUBISHET, A. Prevalence of and risk factors for *Salmonella* in water offered to weaned dairy calves in California, USA. **Prev. Vet. Med.**, Amsterdam, v. 54, n. 2, p. 169-178, 2002.

KRAMER, T. T.; GRIFFITH, R. W.; SAUCKE, L. Iron and transferrin in acute experimental *Salmonella cholerae-suis* infection in pigs. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 46, n. 2, p. 451-455, 1985.

LISBÔA, J. A. N.; BENESI, F. J.; LEAL, M. L. R.; TEIXEIRA, C. M. C. Efeito da idade sobre o equilíbrio ácido-básico de bezerras sadias no primeiro mês de vida. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 136-142, 2002.

MAHMOUDIAN, M.; FALAHAT-PISHE H.; TEYEBI L.; FALAHATI F.; SHAHDAD DIBAZER. Pharmacokinetics of florfenicol in young male calves using HPLC. **JPST**, v. 2, n. 12, p. 432-435, 2010.

MICHAEL, G. B; SIMONETI, R.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 138-142, 2003.

MILES, A. A.; MISRA, S. S. The estimation of the bactericidal power of the blood. **J. Hyg.**, Cambridge, v. 38, n. 6, p. 732-749, 1938.

MILLAR, H. R.; SIMPSON, J. G., STALKER, A. L. An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. **J. Clin. Path.**, London, v. 24, n. 9, p. 827-830, 1971.

MORRIS, D. D. Alteraciones del leucograma. In: SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animales**. 4. ed. Barcelona: Elsevier, 2010. cap. 25, p. 405-410.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **Vet. J.**, Oxford, v. 168, n. 1, p. 28–40, 2004.

NASCIMENTO, M. S.; BERCHIERI JR., A.; BARBOSA, M. D.; ZANCAN, F. T.; ALMEIDA, W. A. F. Comparação de meios de enriquecimento e de plaqueamento utilizados na pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango e fezes de aves. **Rev. Bras. Cienc. Avic.**, Campinas, v. 2, n. 1, p. 85-91, 2000.

NIAZ, B.; KHAN, A; JAVED, M. T.; HUSSAIN, A.; AHMAD, K. M. Haematological studies in induced buffalo neonatal calf diarrhoea with enteropathogenic *E. coli*. **Pakistan Vet. J.**, Faisalabad, v. 20, n. 2, p. 85-89, 2000.

ORRO, T.; JACOBSEN, S.; LEPAGE, J. P.; NIEWOLD, T.; ALASUUTARI, S.; SOVERI, T. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. **Vet. J.**, Oxford, v. 176, n. 2, p. 182-187, 2008.

PAPICH, M. G.; RIVIERE, J. E. Chloramphenicol and derivatives, macrolides, lincosamides, and miscellaneous antimicrobials. In: RIVIERE, J. E.; PAPICH, M. G. **Veterinary pharmacology and therapeutics**. 9. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2009. cap. 37, p. 945-982.

PIERCY, D. W. T. Acute phase responses to experimental salmonellosis in calves and colibacillosis in chickens: serum iron and caeruloplasmin. **J. Comp. Path.**, Oxford, v. 89, n. 3, p. 309-319, 1979.

RABSCH, W.; ANDREWS, H. L.; KINGSLEY, R. A.; PRAGER, R.; TSCHÄPE, H.; ADAMS, L. G.; BÄUMLER, A. J. *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and its host-adapted variants. **Infect. Immun.**, Washington, v. 70, n. 5, p. 2249-2255, 2002.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses**. 10 ed. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2007. 2156 p.

RANDHAWA, S. S.; AHUJA, A. K.; RANDHAWA, C. S. Effect of acute lactic acidosis on acid base status and blood gas dynamics in buffalo calves (*Bubalus bubalis*). **Indian Journal of Veterinary Medicine**, Usnagar, v. 13, n. 2, p. 42-47, 1993.

REBHUN, W. C. **Doenças do gado leiteiro**. São Paulo: Roca, 2000. 642 p.

RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H.; JEREZ, J. A.; LEITE, D. S.; FERREIRA, F.; GENNARI, S. M. Identification of enteropathogens from buffalo calves with and without diarrhoea in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 37, n. 2, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95962000000200013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 11 dez. 2011.

SAMS, R. A. Florfenicol: propriedades químicas e metabolismo de um novo antibiótico de largo espectro. **Hora Vet.**, Porto Alegre, n. 2, p. 19-22, 1997.

SANTANA, A. M.; SILVA, D. G.; SIMPLÍCIO, K. M. M. G.; CLEMENTE, V.; FAGLIARI, J. J. Prevalência de *Salmonella* spp em amostras de fezes de búfalos. In: ENCONTRO DE PÓS-GRADUANDOS DA UNESP, 6., 2010, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: 2010. CD-ROM.

SANTANA, A. M. **Infecção experimental com *Salmonella* Dublin em bezerros bubalinos: estudo clínico, laboratorial e terapêutico**. 2012. 122 f. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

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

SANTOS, R. L.; ZHANG, S.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Morphologic and molecular characterization of *Salmonella typhimurium* infection in neonatal calves. **Vet. Pathol.**, Washington, v. 39, n. 2, p. 200-215, 2002b.

SATIJA, K. C.; RAJPAL, S.; PANDEY, R.; SHARMA, V. K. Electrophoresis of buffalo (*Bos bubalis*) serum proteins including immunoglobulins. **Infect. Immun.**, Washington, v. 24, n. 2, p. 567-570, 1979.

SCHÖNENBRÜCHER, V.; MALLINSON, E. T. BÜLTE, M. A comparison of standard cultural methods for the detection of foodborne *Salmonella* species including three new chromogenic plating media. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v. 123, n. 1-2, p. 61–66, 2008.

SCOTT, P. R.; HALL, G. A.; JONES, P. W.; MORGAN, J. H. Diarreia dos bezerros. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. cap. 14, p. 162-188.

SILVA, D. G. **Estudo clínico, laboratorial e terapêutico da diarreia experimental em bezerros induzida por *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Dublin**. 2007. 153 f. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

SILVA, D. G.; FAGLIARI, J. J.; GARCIA, T. B. Comparison of the efficiency of selective enrichment broths for *Salmonella* Dublin isolation. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 766-768, 2008.

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.**, Belo Horizonte, v. 62, n. 3, p. 499-503, 2010a.

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.**, Belo Horizonte, v. 62, n. 2, p. 251-257, 2010b.

SINGH, B. R.; AGARWAL, M.; CHANDRA, M.; VERMA, M.; SHARMA, G.; VERMA, J. C.; SINGH, V. P. Plasmid profile and drug resistance pattern of zoonotic *Salmonella* isolates from Indian buffaloes. **J. Infect. Dev. Ctries.**, Sassari, v. 4, n. 8, p. 477-483, 2010.

- SINGH, J.; KOHLI, R. N. Acid-base status and blood gases in normal buffalo calves (*Bubalis bubalis*). **Zentralbl. Veterinarmed. A**, Berlin, v. 27, n. 4, p. 343-345, 1980.
- SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animales**. 4. ed. Barcelona: Elsevier, 2010. p. 877-881.
- SOBTI, V. K.; SINGH, S. S.; SABITRI, S.; KUMAR, R. Acid base status and blood gases following experimental hyperkalemia in buffalo calves (*Bos bubalis*). **Acta Vet.**, Belgrade, v. 34, n. 1, p. 15-22, 1984.
- THOMAS, J. S. Overview of plasma proteins. In: FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap. 134, p. 891-898.
- TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2. ed. Barueri: Manole, 2003. 331 p.
- TREMBLAY, R. R. M. Intravenous fluid therapy in calves. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, Philadelphia, v. 6, n. 1, p. 77-101, 1990.
- TSOLIS, R. M.; ADAMS, L. G.; FICHT, T. A.; BÄUMLER, A. J. Contribution of *Salmonella typhimurium* virulence factors to diarrheal disease in calves. **Infect. Immun.**, Washington, v. 67, n. 9, p. 4879-4885, 1999.
- VAN DUIJKEREN, E.; HOUWERS, D. J. A critical assessment of antimicrobial treatment in uncomplicated *Salmonella* enteritis. **Vet. Microbiol.**, Amsterdam, v. 73, n. 1, p. 61-73, 2000.
- VASCONCELOS, A. C. **Necropsia e remessa de material para laboratório em medicina veterinária**. Brasília: MEC/ABEAS, 1988. 74 p.
- VELGE, P.; CLOECKAERT, A.; BARROW, P. Emergence of *Salmonella* epidemics: the problems related to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. **Vet. Res**, London, v. 36, n. 3, p. 267-288, 2005.

WALLIS, T. S. Host-specificity of *Salmonella* infections in animal species. In: MASTROENI, P.; MASKELL, D. **Salmonella infections**: clinical, immunological and molecular aspects. Cambridge: Cambridge University Press, 2006. cap. 3, p. 57-88.

WALTMAN, W. D. Methods for the cultural isolation of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. Oxon: CABI Publishing, 2000. cap. 21, p. 355-372.

WEBER, K.; OSBORN, M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 244, n. 16, p. 4406-4412, 1969.

WHITE, D. G.; HUDSON, C.; MAURER, J. J.; AYERS, S.; ZHAO, S.; LEE, M. D.; BOLTON, L.; FOLEY, T.; SHERWOOD, J. Characterization of chloramphenicol and florfenicol resistance in *Escherichia coli* associated with bovine diarrhea. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 38, n. 12, p. 4593-4598, 2000.

WINTER, H. **Guia para la necropsia de los rumiantes domesticos**. 1. ed. Zaragoza: Acribia, 1969. 118 p.

WRAY, C.; DAVIES, R. H. *Salmonella* infections in cattle. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. Oxon: CABI Publishing, 2000. cap. 10, p. 169-190.

ZAMAN, T.; KHAN A.; AKHTAR, M. Z. Some of the risk factors of Nili-Ravi buffalo (*Bubalus bubalis*) neonatal calf mortality in Pakistan. **Pakistan Vet. J.**, Faisalabad, v. 26, n. 3, p. 121-125, 2006.

ZARGHAM KHAN, M.; MUHAMMAD, G.; UMAR, A.; ALI KHAN, S. A preliminary comparison of plasma fibrinogen concentrations, leukocyte numbers and erythrocyte sedimentation rate as non-specific indicators of inflammatory conditions in buffalo (*Bubalis bubalis*). **Vet. Res. Commun.**, Dordrecht, v. 21, n. 4, p. 265-271, 1997.