

Comunicação

[Communication]

Avaliação clínica da infecção experimental de bezerros com *Salmonella Typhimurium*

[Clinical evaluation of experimental *Salmonella Typhimurium*-infection in calves]

L.G. Ávila¹, D.G. Silva², R.A. Sato³, J.J. Fagliari⁴

¹Aluna de pós-graduação - Faculdade de Medicina Veterinária -Unesp – Araçatuba, SP
Rua Clóvis Pestana, 793
16050-680 – Araçatuba, SP

²Aluna de pós-graduação - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp – Jaboticabal, SP
³Médico veterinário autônomo

⁴Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp – Jaboticabal, SP

A diarreia neonatal de bezerros acarreta graves prejuízos à pecuária tanto pela mortalidade quanto pelos custos envolvidos com o tratamento e atraso no crescimento dos animais, sendo a salmonelose uma das causas mais importantes, com destaque para *Salmonella (S.) enterica* subespécie *enterica* sorotipos Typhimurium e Dublin (Fecteau *et al.*, 2003). A principal porta de entrada para a ocorrência da infecção é a cavidade oral, pela ingestão de água e alimentos contaminados. A bactéria se instala no sistema digestório, principalmente nas porções terminais do íleo e ceco (Kirk *et al.*, 2002; Radostits *et al.*, 2002).

A infecção resulta em ampla variedade de sinais clínicos, em função da idade do animal e do sorotipo envolvido, sendo necessárias doses de 10^9 e 10^{10} unidades formadoras de colônia (UFC) de *S. Typhimurium* para provocar a doença em bovinos saudáveis (Santos *et al.*, 2002). Em bezerros com até oito semanas de idade, a infecção pode causar diarreia aguda, aquosa e fétida, desidratação, desequilíbrio eletrolítico, endotoxemia, bacteremia e morte (Fecteau *et al.*, 2003), sendo a taxa de mortalidade inversamente proporcional à idade (Santos *et al.*, 2002).

Os objetivos do presente estudo foram avaliar o quadro clínico de bezerros submetidos à infecção experimental com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* e verificar a viabilidade do modelo experimental

na indução da doença em bezerros. O estudo foi aprovado pelo Conselho de Ética e Bem-Estar Animal da FCAV-UNESP/Jaboticabal (número do protocolo 009986-07).

Foram examinados 12 bezerros machos da raça Holandesa, saudáveis, com 10 a 15 dias de idade, obtidos de rebanho comercial. Os bezerros foram alojados em abrigos individuais (1,30mx1,50mx1,35m) e receberam quatro litros de leite *in natura* pasteurizado tipo A, duas vezes ao dia, além de ração, feno e água à vontade. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais de seis animais e submetidos aos seguintes procedimentos: grupo 1: bezerros infectados experimentalmente, por via oral e com auxílio de seringa estéril, com 10^9 UFC de *S. Typhimurium* suspensas em 10 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI; CM225-Oxoid), antes da primeira mamada do dia; grupo 2: bezerros que receberam apenas 10mL de caldo BHI (grupo controle).

A cepa de *S. Typhimurium* (registro IOC 6333/06) foi isolada originalmente de bezerro infectado naturalmente e cedida pela Fundação Oswaldo Cruz (Manguinhos – RJ). A bactéria foi cultivada de acordo com as recomendações de Wray e Sojka (1981) e quantificada pela técnica de Miles e Misra (1938).

Recebido em 11 de março de 2011

Aceito em 13 de setembro de 2011

E-mail: lgavila_10@hotmail.com

Os bezerros foram submetidos ao exame físico, de acordo com as recomendações de Feitosa (2008), imediatamente antes da inoculação e a cada 24 horas, durante seis dias após a infecção experimental. O isolamento de *S. Typhimurium* foi realizado a partir de amostras de suabes retais, enriquecidos em caldo selenito cistina (CM699-Oxoid) e tetracionato Muller-Kauffmann (CM343 - Oxoid) e plaqueados em ágar verde brilhante modificado (CM329-Oxoid) contendo 50µg/mL de ácido nalidíxico, como preconizado por Rice *et al.* (1997) e Santos *et al.* (2002).

Antes da inoculação com *S. Typhimurium*, todos os parâmetros clínicos estavam dentro dos valores considerados normais para a espécie bovina (Feitosa, 2008). Entre 24 e 72 horas após a infecção experimental, todos os animais inoculados com 10⁹ UFC de *S. Typhimurium* apresentaram diferentes graus de diarreia (Tab. 1), com presença de muco e/ou estrias de sangue. O aumento de temperatura foi verificado nos animais infectados entre 48 e 96 horas após a inoculação bacteriana, não tendo sido constatadas alterações clínicas nos animais do grupo-controle.

Tabela 1. Isolamento microbiológico de *Salmonella* Typhimurium a partir de suabes retais e avaliação clínica dos bezerros infectados experimentalmente com aproximadamente 10⁹UFC de *Salmonella* Typhimurium

Nº Bezerro	Bactéria e sintomas	Horas após a infecção						
		0	24	48	72	96	120	144
1	Fezes	-	+	+	+	+	+	+
	Sinais clínicos		D	D	D	DT	D	
2	Fezes	-	+	+	+	+	+	+
	Sinais clínicos		D	DT	DT	DT	DT	T
3	Fezes	-	+	+	+	+	+	+
	Sinais clínicos		D	D	DT	DT	D	
4	Fezes	-	+	+	+	+	+	-
	Sinais clínicos		D	D	D	D	D	D
5	Fezes	-	+	+	+	+	+	+
	Sinais clínicos		D	DT	DT	DT	DT	D
6	Fezes	-	+	+	+	+	+	+
	Sinais clínicos		D	D	D	DT	D	DT

+ = presença de *Salmonella*; - = ausência de *Salmonella*; D = diarreia; T = temperatura acima de 39,5°C.

O isolamento de *S. Typhimurium* a partir de suabes retais ocorreu 24 horas após a infecção experimental, sendo verificada excreção de forma contínua ou intermitente. Andrews *et al.* (2008) relataram que a ocorrência do estado de portador é mais comum em casos de infecção por *S. Dublin*, porém, no presente estudo, a eliminação de *S. Typhimurium* nas fezes ocorreu de forma variada e intermitente, sendo que dois animais eliminaram o agente até 14 dias (336 horas) após a inoculação e um animal apresentou resultado positivo no isolamento microbiológico 17 dias (408 horas) após a inoculação.

Apesar da eliminação contínua do agente pelas fezes, os animais encontravam-se clinicamente saudáveis (sem indício de doença), caracterizando o estado de portadores assintomáticos (Bergeron *et al.*, 2010). Devido à continuidade da eliminação do agente pelas

fezes, foram realizadas coletas rotineiras por meio de suabes retais, até a constatação de dois resultados negativos no isolamento microbiológico em ambos os caldos de enriquecimento, com intervalo de 15 dias, conforme sugerido por Andrews *et al.* (2008). Não houve o isolamento de *S. Typhimurium* em nenhuma das amostras de suabes retais dos animais do grupo-controle.

Todos os bezerros inoculados apresentaram sinais clínicos evidentes de infecção, como diarreia e febre, conforme relatado por Wray e Davies (2000), porém sem sinais de desidratação. Foram frequentes os episódios de fezes de consistência pastosa com a presença de estrias de sangue e muco, além da disquesia demonstrada por alguns animais, corroborando os achados de Mohler *et al.* (2009).

Avaliação clínica...

Não foi observada a ocorrência de óbito, semelhante ao verificado por Andrews *et al.* (2008), que relataram que a morbidade causada pela *S. Typhimurium* pode variar de 10 a 70%, porém a mortalidade geralmente não é alta. Silva (2007) verificou taxa de mortalidade de 83,3% em animais inoculados com *S. Dublin*, além da diferença com relação aos quadros de desidratação e diarreia, que foram leves no presente estudo, diferindo dos dados obtidos no experimento realizado por esse autor. No grupo controle, os animais mostraram-se hidratados ao longo do experimento, enquanto no grupo inoculado, os animais apresentaram grau variável de desidratação a partir de 24 horas após a infecção. Não foi observado nenhum animal gravemente desidratado, diferindo do observado por Radostits *et al.* (2002) e Santos *et al.* (2002),

que afirmaram que a desidratação é um dos achados clínicos mais comuns em animais com salmonelose e está principalmente relacionada à gravidade da diarreia. Este estudo, portanto, mostrou a importância epidemiológica que o sorotipo *Typhimurium* apresenta em rebanhos comerciais de bovinos.

Os resultados permitem concluir que a administração oral de 10^9 UFC de *S. Typhimurium* em caldo BHI é suficiente para induzir quadro clínico de salmonelose em bezerros com idade entre 10 e 15 dias, cujos principais sinais clínicos constatados foram diarreia e febre.

Palavras-chave: bezerro, salmonelose, diarreia

ABSTRACT

The clinical conditions of healthy calves infected with 10^9 CFU of Salmonella Typhimurium were evaluated and the viability of the experimental model in disease induction was verified. Twelve male Holstein calves, 10 to 15-days old, were examined. They were allocated into two groups, control and experimentally infected. Animals were submitted to clinical examination after inoculation and at every 24 hours, during six days after infection. Samples of rectal swabs were collected for Salmonella Typhimurium isolation. Results showed that all animals had different degrees of diarrhea, with mucus and bleeding, 24 to 72 hours after experimental infection with Salmonella Typhimurium, accompanied by fever, but no signs of sepsis. The isolation of Salmonella Typhimurium from rectal swabs occurred 24 hours after the infection and there were no deaths during the experiment, which means that this sorovar has an epidemiological importance related to the intermittent or continuous elimination of the bacterium. Results also showed that the oral administration of 10^9 CFU of Salmonella Typhimurium induces clinical signs of salmonellosis in 10 to 15-day-old calves.

Keywords: calf, salmonellosis, diarrhea

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP, pela concessão de bolsa e pelo auxílio financeiro, e à Fundação Oswaldo Cruz, pelo fornecimento da cepa de *S. Typhimurium*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H. *et al.* *Medicina bovina: doenças e criação de bovinos*. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008, 1080p.

BERGERON, N.; CORRIVEAU, J.; LETELLIER, A. *et al.* Characterization of *Salmonella Typhimurium* isolates associated with septicemia in swine. *Can J. Vet Res.*, v.74, p.11-17, 2010.

FECTEAU, M.V.; HOUSE, J.K; KOTARSKI, S.F. *et al.* Efficacy of ceftiofur treatment of experimental salmonellosis in neonatal calves. *Am. J. Vet. Res.*, v.64, p.918-925, 2003.

FEITOSA, F.L.F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. 2.ed. Roca: São Paulo, 2008. 754p.

KIRK, J.; ATWILL, E.; HOLMBERG, C. *et al.* Prevalence of and risk factors for *Salmonella* in water offered to weaned dairy calves in California. *Prev. Vet. Med.*, v.54, p.169-178, 2002.

MILLES, A.A.; MISRA, S.S. The estimation of the bactericide power of the blood. *J. Hyg.*, v.38, p.732-739, 1938.

MOHLER, V.L.; IZZO, M.M.; HOUSE, J.K. *Salmonella* in calves. *Vet. Clin. Food Anim.*, v.25, p.37-54, 2009.

RADOSTITS, O.M.; GAY, G.C.; BLOOD, D.C. et al. *Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

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

SILVA, D.G. *Estudo clínico, laboratorial e terapêutico da diarreia experimental em bezerros induzida por Salmonella enterica subespécie enterica sorotipo Dublin*. 2007. 186f. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

WRAY, C.; SOJKA, W.J. *Salmonella* dublin infection of calves: use of small doses to simulate natural infections on the farm. *J. Hyg.*, v.87, p.501-509, 1981.

WRAY, C.; DAVIES, R.H. *Salmonella* infections in cattle. In: WRAY, C.; WRAY, A. *Salmonella* in domestic animals. Oxon: CABI Publishing, 2000. p.169-191.