

## AVALIAÇÃO CLÍNICA E DO MODELO EXPERIMENTAL DA INFECÇÃO DE BEZERROS COM *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

ÁVILA, L.G.<sup>1\*</sup>; SATO, R.A.<sup>2</sup>; JORGE, R.L.N.<sup>3</sup>; NOGUEIRA, C.A.S.<sup>3</sup>; FAGLIARI, J.J.<sup>4</sup>

**ABSTRACT:** Diarrhea is a common disease in newborn calves leading to economic loss to the cattle industry. *Salmonella* sp is relevant in this context, causing gastrointestinal infections which result in a variety of clinical manifestations. The aim of this study was to clinically evaluate *Salmonella* Typhimurium experimentally infected calves and simultaneously check the experimental model for induction of disease in calves.

**KEY WORDS:** clinical evaluation, *Salmonella* Typhimurium, calves.

### INTRODUÇÃO

As diarréias de bezerros recém-nascidos representam uma das principais causas de prejuízos à criação de bovinos<sup>1</sup>. As perdas econômicas incluem custos com medicamentos e assistência veterinária, atraso no ganho genético dos rebanhos, além do risco de óbito dos animais acometidos<sup>3</sup>. Em bezerros, os distúrbios decorrentes das diarréias devem-se, principalmente, à ação local e sistêmica de enterotoxinas e endotoxinas bacterianas, à inflamação causada pelo agente etiológico e à atrofia das vilosidades intestinais. Tais condições resultam em hipersecreção e má absorção intestinal, bem como em transtornos hematológicos, bioquímicos e hemogasimétricos, de gravidade variável<sup>3</sup>. Dentre as causas de diarréia em bezerros, a salmonelose é uma das mais importantes<sup>4</sup>, sendo a maioria das infecções naturais relacionadas a *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipos Typhimurium e Dublin, os quais sobrevivem bem em bovinos e induzem a altas taxas de morbidade e mortalidade<sup>6</sup>. O gênero *Salmonella* é de ocorrência cosmopolita e acomete todas as espécies animais, incluindo a humana, e tem sido incriminado como causa de infecções alimentares decorrentes do consumo de carne, leite e seus derivados. Trata-se de uma bactéria pertencente à Família *Enterobacteriaceae*, Gram-negativa, intracelular facultativa, não-formadora de esporos, aeróbia ou anaeróbia facultativa, geralmente móvel. Contém três tipos de antígenos: somático (O), associado à parede celular e composto por lipopolissacarídeos; flagelar (H), de natureza protéica; e capsular (Vi), encontrado em algumas espécies de *Salmonella*<sup>5</sup>. Os bezerros neonatos são particularmente suscetíveis à infecção por *Salmonella* sp devido à imaturidade de seu sistema imune, à inadequada microbiota gastrintestinal e à exposição contínua ao meio ambiente<sup>1</sup>. A infecção resulta em grande variedade de sinais clínicos, em função da idade do animal e do sorotipo envolvido. É importante salientar, entretanto, que o número de bactérias necessário para causar a doença depende, também, da virulência do agente, do estado imunológico do hospedeiro e das condições ambientais. As formas de manifestação

---

<sup>1</sup> Mestranda do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal. Bolsista FAPESP. E-mail: lgavila\_10@hotmail.com

<sup>2</sup> Graduando do curso de Medicina Veterinária da FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal. Bolsista de Iniciação Científica FAPESP

<sup>3</sup> Técnicas do Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal

<sup>4</sup> Professor Adjunto do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane s/n. Cep: 14.884-900 – Jaboticabal-SP.

clínica da salmonelose em bovinos incluem a hiperaguda (septicêmica), aguda (entérica) e crônica<sup>5</sup>. Na maioria dos casos, após período de incubação de um a quatro dias, surge diarreia profusa, aquosa e fétida. Nos casos em que endotoxinas e outros produtos bacterianos são absorvidos, a diarreia é acompanhada de sinais agravantes como febre, anorexia, depressão e choque. A morte pode ocorrer subitamente ou após período de três a sete dias. O objetivo do estudo foi avaliar o modelo experimental de indução experimental de salmonelose com  $10^9$  unidades formadoras de colônias (UFC) de *Salmonella* Typhimurium em bezerros e, adicionalmente, verificar o quadro clínico de bezerros submetidos à infecção.

### **MATERIAL E MÉTODO**

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP/Campus de Jaboticabal.

Foram utilizados doze bezerros da raça Holandesa com 10 a 15 dias de idade, que haviam ingerido colostro materno ao nascer. Estes bezerros foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo controle (animais sadios, n = 6) e grupo infectado (animais inoculados experimentalmente, por via oral, com  $10^9$  UFC de *Salmonella* Typhimurium, n = 6). Durante a fase experimental, os animais foram alojados em bezerreiros individuais, de modo a propiciar o mínimo desconforto e, então, submetidos ao exame físico imediatamente antes da inoculação de *S. Typhimurium* (M0) e a cada doze horas, durante seis dias após a inoculação (M1 a M6). Os parâmetros avaliados durante o exame físico incluíram frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, consistência das fezes (0 = normal, 1 = diarreia discreta e 2 = diarreia moderada a grave), comportamento dos bezerros (0 = alerta, 1 = apático e 2 = decumbente), grau de desidratação (0 = ausente, 1 = leve, 2 = moderado a grave), avaliado pelo turgor cutâneo e pela retração do globo ocular, e o apetite (0 = normal, 1 = diminuído e 2 = ausente). Foram colhidas, também, amostras de fezes, por meio de suabes retais, para o isolamento microbiológico de *Salmonella* Typhimurium, sendo a primeira colheita realizada antes da inoculação (M0) e as demais diariamente, com intervalos de vinte e quatro horas, durante os seis dias pós-inoculação (M1 a M6). Foram utilizados dois caldos de enriquecimento seletivo para o isolamento da bactéria: selenito-cistina e tetracionato Müller-Kauffman. Após esta etapa, uma alíquota dos caldos era transferida para placas contendo meio de cultura Verde Brilhante Modificado, onde ocorria o crescimento de colônias bacterianas. Seguiu-se a realização de testes bioquímicos presuntivos a partir de colônias consideradas suspeitas de *Salmonella* e, finalmente, a confirmação da *S. Typhimurium* por reação de soroaglutinação. Essas etapas apresentavam intervalos de 24 horas.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Todos os animais inoculados experimentalmente com *Salmonella* Typhimurium apresentaram doença clínica, com desenvolvimento de diarreia e hipertermia em graus variados.

Os resultados mostram que, entre 24 e 48 horas após a indução da infecção experimental, os animais inoculados apresentaram febre e diarreia discreta (Fig. 1), moderada a grave (Fig. 2), às vezes com muco e/ou estrias de sangue (Fig. 3). Os parâmetros relativos à frequência cardíaca, à frequência respiratória e ao grau de desidratação não indicaram alterações expressivas, diferentemente do que foi observado em algumas pesquisas que relataram quadro de desidratação mais grave<sup>6</sup>. O apetite dos animais, verificado pela ingestão de 2 litros de leite fornecidos duas vezes

ao dia, não se alterou, inclusive no grupo de bezerros infectados. Também, a manifestação de apatia não foi digna de nota. Alguns autores que induziram infecção experimental por *Salmonella* Typhimurium informam ter observado graus variados de comprometimento sistêmico nos animais inoculados, em decorrência do desequilíbrio ácido-base e hidro-eletrolítico secundário à diarreia e desidratação, inclusive diminuição do apetite e apatia<sup>6</sup>. Foi relevante, neste estudo, a elevação da temperatura corporal, com valores entre 38,6° e 41,4°C. Também foi relevante a alteração na consistência das fezes dos animais infectados, fezes pastosas a líquidas a partir de 24 horas após a inoculação de *S. Typhimurium*, com episódios de tenesmo em alguns animais, além da presença de muco e sangue. Embora dados da literatura indiquem a possibilidade de comprometimento sistêmico e óbito em decorrência de salmonelose<sup>2</sup>, isso não foi constatado no estudo. O isolamento de *Salmonella* Typhimurium em amostras de fezes obtidas em suabes retais foi verificado 24 horas após a inoculação da bactéria. Embora a avaliação clínica dos animais tenha sido realizada no período de sete dias, a coleta de amostras de fezes continuou até que não se constatasse crescimento de *S. Typhimurium* em dois exames consecutivos com intervalo de 15 dias. Em dois animais, verificou-se excreção da bactéria até 14 dias após a inoculação e, em um animal, confirmou-se a excreção do microorganismo até 31 dias após a inoculação experimental. Os animais foram mantidos em observação ao longo deste período em que persistiram as coletas de amostras de fezes, sem sintomatologia clínica (animais atentos, apetite normal e fezes de consistência normal, embora ainda eliminando a bactéria). Em termos epidemiológicos esse achado é extremamente importante.

#### **CONCLUSÃO**

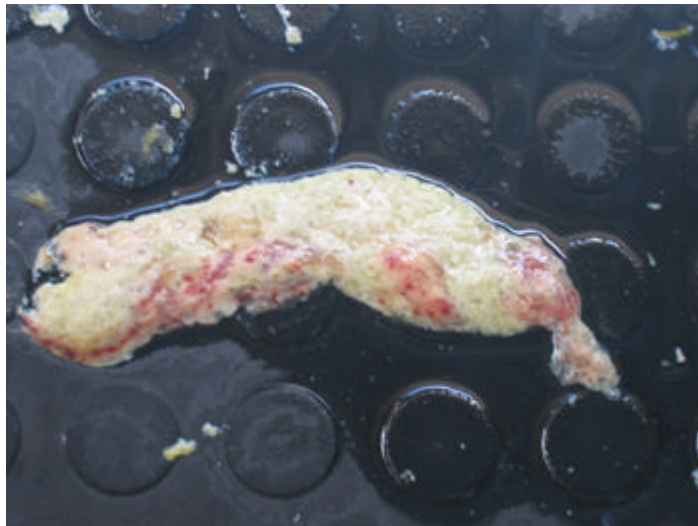
Os resultados permitem concluir que a administração oral de 10<sup>9</sup> UFC de *Salmonella* Typhimurium é eficiente para induzir quadro clínico experimental de salmonelose em bezerros com 10 a 15 dias de vida. Também, é possível afirmar que os principais sinais clínicos induzidos pela infecção incluem diarreia discreta a grave e hipertermia, contudo sem evidência de sinais sistêmicos.



**Figura 1.** Diarreia discreta (grau 1 – fezes pastosas) de bezerro infectado com 10<sup>9</sup> UFC de *Salmonella* Typhimurium, 24 horas após a inoculação.



**Figura 2.** Diarréia moderada a grave (grau 2 – fezes líquidas) de bezerro infectado com  $10^9$  UFC de *Salmonella* Typhimurium, 24 horas após a inoculação.



**Figura 3.** Presença de muco e estrias de sangue nas fezes diarréicas de bezerro infectado com  $10^9$  UFC de *Salmonella* Typhimurium, 24 horas após a inoculação.

**Tabela 1.** Temperaturas retais médias de bezerros sadios (grupo controle) e bezerros infectados experimentalmente com  $10^9$  UFC de *Salmonella* Typhimurium (grupo infectado), antes da inoculação (M0) e em intervalos de 12 horas, até o sexto dia pós-inoculação (M1 a M6).

MOMENTO	MÉDIAS DAS TEMPERATURAS RETAIS (°C)	
	GRUPO CONTROLE	GRUPO INFECTADO
<b>M0 – Manhã</b>	38,7	39,2
<b>Tarde</b>	39,4	39,6
<b>M1 – Manhã</b>	39,0	39,0
<b>Tarde</b>	39,1	39,7
<b>M2 – Manhã</b>	38,4	39,4
<b>Tarde</b>	38,9	40,3
<b>M3 – Manhã</b>	38,4	39,7
<b>Tarde</b>	39,3	40,0
<b>M4 – Manhã</b>	38,3	39,9
<b>Tarde</b>	39,2	39,8
<b>M5 – Manhã</b>	38,5	39,3
<b>Tarde</b>	39,2	39,7
<b>M6 – Manhã</b>	38,4	39,1
<b>Tarde</b>	39,2	39,8

## REFERÊNCIAS

1. BARRINGTON, G.M. et al. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Prat.**, 18(1), 7-34, 2002.
2. CONSTABLE, P.D. et al. Use of hypertonic saline-dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea. **Am. J. Vet. Res.**, 57(1), 97-104, 1996.
3. GROVE-WHITE, D.H.; WHITE, D.G. Abdominal distension in collapsed diarrhoeic calves: biochemical findings and treatment. **Vet. Rec.**, 144, 639-642, 1999.
4. HOUSE, J.K. et al. Evaluation of an autogenous *Salmonella* bacterin and a modified live *Salmonella* serotype Choleraesuis vaccine on a commercial dairy farm. **Am. J. Vet. Res.**, 62(12), 1897-1902, 2001.
5. RADOSTITS, O.M. et al. Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2002. 1737p.
6. SANTOS, R. L. et al. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. **Am. J. Vet. Res.**, 63(8), 1145-1150, 2002.