

SINAIS CLÍNICOS DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE BEZERROS BUBALINOS POR *SALMONELLA ENTERICA* SUBESPÉCIE *ENTERICA* SOROTIPO DUBLIN

André Marcos Santana¹, Daniela Gomes da Silva², Lucas José Luduverio Pizauro³, Priscila Arrigucci Bernardes³ e José Jurandir Fagliari⁴

¹Doutorando em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária) da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

²Pós-doutoranda do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

³Graduandos em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

⁴Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. 14.884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: *Bubalus bubalis*, diarreia, febre, salmonelose

ABSTRACT

CLINICAL SIGNS OF EXPERIMENTAL *SALMONELLA ENTERICA* SUBSPECIES *ENTERICA* SOROVAR DUBLIN IN BUFFALO CALVES

The clinical signs of healthy buffalo calves infected with experimental 10^8 CFU of *Salmonella* Dublin were evaluated and the viability of the experimental model in disease induction was verified. A total of 10 animals aged 10 to 26 days were examined. They were allocated into two groups: control and experimentally infected with 10^8 CFU of *Salmonella* Dublin. Animals were submitted to physical examination before inoculation and every 12 hours during 7 days after infection. Samples of rectal swabs were collected for *Salmonella* Dublin isolation. From 60 to 96 hours after infection, four of the five animals had fever with rectal temperatures ranging from 40,0 to 41,0 °C. All buffalo calves showed signs of diarrhea containing rectal mucus and/or bleeding 24 to 96 hours after experimental infection with *Salmonella* Dublin. The isolation of the agent from rectal swabs occurred 24 hours postinfection. Therefore, oral administration of 10^8 CFU of *Salmonella* Dublin induced clinical signs of salmonellosis in 10 to 26-day-old buffalo calves.

KEYWORDS: *Bubalus bubalis*, diarrhea, fever, salmonellosis.

INTRODUÇÃO

As maiores taxas de mortalidade em búfalos são registradas em animais com até seis meses de idade, sendo a diarreia neonatal dos bezerros uma das principais causas dessas perdas (SUNIL CHANDRA & MAHALINGAM, 1994; BENESI, 2004).

Dentre as causas de diarreia, a salmonelose é uma das mais importantes (HOUSE et al., 2001) e o sorotipo S. Dublin é o mais frequentemente isolado em búfalos (LÁU, 1999). Em bezerros bubalinos, as salmoneloses podem ser responsáveis por 13% a 14% do total de casos de diarreia, com taxa de mortalidade variando de 40% a 72% (FAGIOLO et al., 2005).

A principal porta de entrada para a infecção é a cavidade oral, através da ingestão de água e alimentos contaminados. De maneira geral, em bovinos sob condições experimentais, a infecção com 10^4 a 10^7 UFC da bactéria causa diarreia transitória que persiste por 48 a 192 horas, enquanto doses entre 10^8 a 10^{11} UFC causam sepse de evolução aguda, com morte em curto espaço de tempo (SANTOS et al., 2002). Estudo realizado por SILVA et al. (2008) permitiu concluir que doses de 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin são suficientes para induzir salmonelose em bezerros com 10 a 15 dias de idade .

Em búfalos, os principais sinais clínicos da salmonelose são diarreia, febre e desidratação. A diarreia é profusa, aquosa e fétida, com presença de muco e sangue. Nos casos em que as endotoxinas bacterianas são absorvidas, a diarreia é acompanhada de febre, dor abdominal, apatia, anorexia, fraqueza e taquipnéia; o animal pode morrer dentro de quatro a sete dias (FAGIOLO et al., 2005).

O objetivo do estudo foi avaliar o quadro clínico de bezerros bubalinos submetidos à infecção experimental com 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin e, adicionalmente, verificar a viabilidade do modelo experimental na indução da doença nesta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 10 bezerros bubalinos da raça Murrah sadios, com 10 a 26 dias de idade e peso médio de 51,2 kg, obtidos de rebanhos comerciais dos municípios de Ibitinga e Marília, Estado de São Paulo. Os bezerros foram alojados em abrigos individuais cobertos, para evitar estresse térmico, e receberam, duas vezes ao dia, um total de quatro litros de leite de vaca *in natura* pasteurizado, além de ração, feno e água à vontade. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal da FCAV-UNESP-Campus de Jaboticabal (Protocolos nº 010885-08).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais, com cinco bezerros cada. Os animais do grupo 1 foram infectados experimentalmente, por via oral,

com 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin suspensas em 10 mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (CM0225, Oxoid), antes da primeira mamada do dia. Os bezerros do grupo 2 receberam apenas 10 mL de caldo BHI (grupo controle).

A cepa de *Salmonella* Dublin (registro IOC 3101/03) foi isolada de bezerro infectado naturalmente e cedida pela Fundação Oswaldo Cruz (Manguinhos–RJ). A bactéria foi cultivada de acordo com as recomendações de WRAY & SOJKA (1981) e quantificada pela técnica de MILES & MISRA (1938).

Os bezerros foram submetidos ao exame físico antes da inoculação e a cada 12 horas, ao longo de sete dias após a infecção experimental, como propôs DIRKSEN et al. (1993). A colheita de suabes retais dos bezerros, para avaliar a presença da *Salmonella* Dublin, foi realizada logo antes da inoculação e, a partir daí, diariamente até a constatação de dois resultados negativos consecutivos, em intervalo de 15 dias, conforme sugerido por ANDREWS et al. (2008). Os suabes retais foram posteriormente enriquecidos em caldo selenito-cistina (CM0699, Oxoid), caldo tetrionato Muller-Kauffmann (CM0343, Oxoid) e caldo Rappaport-Vassiliadis (CM0866, Oxoid) e plaqueados em ágar verde brilhante modificado (CM0329, Oxoid), contendo 50 µg/mL de ácido nalidíxico, como preconizado por SANTOS et al. (2002). Colônias com morfologia característica do gênero *Salmonella* foram submetidas a testes bioquímicos, utilizando-se ágar trílice açúcar ferro (TSI) (CM0277, Oxoid) e ágar lisina ferro (LIA) (CM0381, Oxoid). Após a comprovação bioquímica foi realizada soroaglutinação em lâmina, utilizando-se soro polivalente anti-antígenos somáticos (anti-O) de *Salmonella* (Probac do Brasil) e soro anti-antígenos somáticos do sorogrupo D (Probac do Brasil), no qual se inclui *S. Dublin*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não se constatou sinal clínico algum de infecção por salmonela nos bezerros bubalinos do grupo controle. As frequências cardíaca e respiratória dos animais deste grupo variaram de 48 a 96 bpm e de 14 a 42 mpm, respectivamente. A temperatura retal oscilou entre 36,9 a 39,7°C, semelhantes àquela relatada por TITTO et al. (1997), em búfalos mantidos em câmara bioclimática, em condições típicas de clima tropical.

No grupo de bezerros infectados, as frequências cardíaca e respiratória variaram de 44 a 106 bpm e de 15 a 53 mpm, respectivamente. Os primeiros sinais de febre surgiram 60 horas após a inoculação e 96 horas após a infecção quatro animais (80%) já apresentavam febre, com temperatura retal entre 40,0 e 41,0 °C; apenas um bezerro não apresentou febre durante o período experimental. Seis dias após a inoculação, os sinais clínicos dos bezerros

regrediram espontaneamente, com temperatura retal dentro da normalidade em todos os animais. SILVA et al. (2008), estudando bezerros bovinos com 10 a 15 dias de idade infectados experimentalmente com 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin, observaram os primeiros sinais de febre mais precocemente, 24 horas após a inoculação, sendo que 84 horas após a infecção experimental os animais apresentavam temperatura média de $40,1^\circ\text{C}$.

Entre 24 e 96 horas após a inoculação, todos os bezerros bubalinos do grupo infectado manifestaram diarreia discreta a grave, com presença de muco e/ou estrias de sangue; sete a dez dias após a infecção experimental notou-se recuperação espontânea da diarreia, nestes animais. SILVA et al. (2008) verificaram diarreia grave em todos os bezerros de vacas 12 a 36 horas após a infecção experimental por *S. Dublin*.

Dois bezerros infectados (40%) apresentaram desidratação discreta 72 e 96 horas após a inoculação, respectivamente; por outro lado, SILVA et al. (2008) relataram a ocorrência de desidratação 36 horas após a inoculação. Também, não se constatou sintoma respiratório, como tosse, secreção nasal e taquipnéia, relatados por SILVA et al. (2008) em bezerros bovinos. Quanto ao apetite, apenas um animal apresentou inapetência e apatia entre 120 e 136 horas após a inoculação.

Não foi isolada *Salmonella* Dublin nas amostras de suabes retais dos animais do grupo controle. No grupo de bezerros infectados, o isolamento ocorreu 24 horas após a inoculação, sendo verificada excreção contínua em dois animais e intermitente em três búfalos durante os sete dias após a infecção. SILVA et al. (2008) isolaram a bactéria a partir de 12 horas após a infecção experimental de bezerros bovinos, sendo que dois dos seis animais infectados apresentaram excreção contínua, também durante os sete dias após a infecção.

Apesar de os bezerros infectados já não apresentarem sinais clínicos de salmonelose entre sete e dez dias após a infecção experimental, constatou-se eliminação de *Salmonella* Dublin por até 16 dias após a inoculação, achado este de relevância epidemiológica. De modo semelhante, ÁVILA (2008), estudando bezerros bovinos com 10 a 15 dias de idade infectados experimentalmente com 10^9 UFC de *Salmonella* Typhimurium, verificou excreção da bactéria por até 31 dias após a inoculação e que a partir de sete dias após a infecção experimental os animais já não apresentavam sintomas de salmonelose.

Não se verificou óbito de bezerros bubalinos infectados com *Salmonella* Dublin, ao contrário do relatado por SILVA et al. (2008), que constataram dois óbitos (33,3%) no grupo de bezerros infectados durante o período experimental de sete dias.

CONCLUSÃO

Os resultados permitem concluir que a administração oral de 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin é suficiente para induzir quadro clínico de salmonelose em bezerros bubalinos com 10 a 26 dias de idade, cujos principais sinais clínicos são diarreia, febre e desidratação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de bolsa e à Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ pelo fornecimento da cepa de *Salmonella* Dublin.

REFERÊNCIAS

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

ÁVILA, L. G.; SATO, R. A.; JORGE, R. L. N.; NOGUEIRA, C. A. S.; FAGLIARI, J. J. Avaliação clínica e do modelo experimental da infecção de bezerros com *Salmonella* Typhimurium. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Título...** Gramado: 2008. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos>>. Acesso em: 23 jul. 2009.

BENESI, F. J. Principais enfermidades de bezerros neonatos. Como diagnosticá-las e tratá-las? 2004. Disponível em: <<http://www.spmv.org.br/conpavet2004/palestras%20-%20resumos/Neonatologia%20-%20Fernando%20Jose%20Benesi.doc>>. Acesso em 23 jul. 2009.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger: Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.

FAGIOLO, A.; RONCORONI, C.; LAI, O.; BORGHESE, A. Buffalo Pathologies. In: BORGHESE, A. **Buffalo Production and Research**. Roma: FAO, 2005. cap. 13, p. 249-296.

HOUSE, J. K.; ONTIVEROS, M. M.; BLACKMER, N. M.; DUEGER, E. L.; FITCHHORN, J. B.; McARTHUR, G. R.; SMITH, B. P. Evaluation of an autogenous *Salmonella* bacterin and a modified live *Salmonella* serotype Choleraesuis vaccine on a commercial dairy farm. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 62, p. 1897-1902, 2001.

LÁU, H. D. **Doenças em búfalos no Brasil: diagnóstico epidemiologia e controle**. Brasília: Embrapa, 1999. 202 p.

MILES, A. A.; MISRA, S. S. The estimation of bactericide power of the blood. **Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 38, p. 732-749, 1938.

SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* serovar Typhimurium-infected calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 63, p. 1145-1150, 2002.

SILVA, D. G.; SILVA, P. R. L.; FAGLIARI, J. J.; ALESSI, A. C.; OLIVEIRA, R. G. Clinical evaluation of experimental *S. Dublin* Infection in calves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, p. 251-255, 2008.

SUNIL CHANDRA, N. P.; MAHALINGAM, S. Rotavirus associated diarrhoeas in buffalo calves in Sri Lanka. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings...** Sao Paulo: 1994. v. II: p. 322-324.

TITTO, E. A. L.; RUSSO, H. G.; LIMA, C. G. Efeito do banho de água sobre o conforto térmico de bubalinos. In: CONGRESSO DE ZOOTECNIA, 6. 1997, Lisboa. **Actas...** Lisboa: APEZ, 1997. v. 1, p. 15-18.

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.