

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Dissertação

**Diarreia em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul**

**Sergio Farias Vargas Júnior**

Pelotas, 2015

**Sergio Farias Vargas Júnior**

**Diarreia em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Eliza Simone Viégas Sallis

Pelotas, 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

J11d Vargas Júnior, Sergio Farias

Diarreia em bezerros na região sul do Rio Grande do sul / Sergio Farias Vargas Júnior ; Eliza Simone Viégas Sallis, orientadora. — Pelotas, 2015.

40 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Bezerro. 2. Diarreia. 3. Criptosporidiose. 4. Estudo retrospectivo. 5. Nematódeos gastrintestinais. I. Sallis, Eliza Simone Viégas, orient. II. Título.

CDD : 636.2

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Sergio Farias Vargas Júnior

**Diarreia em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul**

Dissertação apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 27/02/2015

Banca examinadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliza Simone Viégas Sallis (Orientadora)  
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Claudio Severo Lombardo de Barros  
PhD em Patologia Animal pela Colorado State University

Dr<sup>a</sup>. Ana Lucia Schild  
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margarida Buss Raffi  
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus pela vida que tenho.

Aos meus pais, Sergio Farias Vargas e Flávia Tourinho Vargas, pelo exemplo de vida e apoio incondicional a todas minhas decisões.

A minha orientadora Dra. Eliza Simone Viegas Sallis, pela confiança depositada, pelo apoio incondicional para realização deste trabalho e também pela oportunidade de podermos trabalhar juntos durante este período.

A Dra. Ana Lucia Schild pela contribuição para formação do meu conhecimento técnico durante este período de mestrado.

Ao amigo Dr. Clairton Marcolongo pela disponibilidade em ajudar sempre que solicitado e pela ajuda na elaboração deste trabalho.

As amigas Silvia Ladeira, Renata Schramm e Carla Hartwig pela disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

Aos professores Drs. Dulcinea Blum Menezes e Fabio Leivas Leites e suas equipes pela contribuição para elaboração de parte deste trabalho.

Aos produtores rurais da região que abriram as portas de suas propriedades para realização de parte deste trabalho.

Aos meus amigos, por tantos momentos de alegria durante esse período, nunca deixando de me apoiar nos momentos difíceis.

Aos amigos do LRD (professores, técnicos, funcionários e alunos) que nunca mediram esforços para contribuir no desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal de Pelotas/Faculdade de Medicina Veterinária pela oportunidade de aprofundar meus conhecimentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram de alguma forma para alcançar este objetivo o meu Muito Obrigado!!

## Resumo

VARGAS-JUNIOR, Sergio Farias. **Diarreia em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul**. 2015.40f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

Esta dissertação trata-se de um estudo dos distúrbios entéricos em bezerros diagnosticados na região sul do Rio Grande do Sul em um período de 36 anos. É apresentado um trabalho com a descrição das principais causas de diarreia em bezerros, sendo as causas parasitárias e as bacterianas as mais prevalentes. Foram diagnosticados 94 casos de bezerros com diarreia, destes, 44,7% foram de causas parasitárias e 34,0% de causas bacterianas. A diarreia de causa parasitária foi a mais importante na região sul do Rio Grande do Sul e afetou bezerros de três a 12 meses de idade. É apresentado, também, um estudo que descreve os aspectos epidemiológicos, sinais clínicos e a patologia de um surto de criptosporidiose ocorrido em bezerros na mesma região. De um lote de 400 animais de 30-45 dias de idade, 35 adoeceram e 16 morreram. Os bezerros nasciam fracos e logo após o nascimento apresentavam diarreia amarela, emagrecimento progressivo, desidratação, depressão e morte entre 10 e 15 dias após o início dos sinais clínicos. Na necropsia havia congestão dos vasos sanguíneos intestinais e mesentéricos. Havia distensão intestinal por gás e dilatação de vasos linfáticos. Microscopicamente havia achatamento das vilosidades intestinais, com necrose e atrofia. Aderidas à superfície das células epiteliais das vilosidades, havia estruturas puntiformes basofílicas de 2-5µm de diâmetro compatíveis com *Cryptosporidium* spp. A microscopia eletrônica revelou a presença de diferentes estágios do agente aderidos às microvilosidades de enterócitos. A criptosporidiose é uma importante causa de diarreia em bezerros não só como um agente oportunista, mas também como um agente primário de diarreia em bezerros.

**Palavras-Chave:** bezerro; diarreia; criptosporidiose; estudo retrospectivo; nematódeos gastrintestinais; *Escherichia coli*

## Abstract

VARGAS-JUNIOR, Sergio Farias. **Diarrhea in calves in Southern Brazil**. 2015.40f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

This dissertation is a study of enteric disorders in calves diagnosed in southern Brazil in 36 years. It is presented a study with the description of the main causes of diarrhea in calves. Parasitic and the bacterial causes are the most prevalent. Ninety-four cases of calves with diarrhea were diagnosed, of these, 44.7% were of parasitic causes and 34.0% of bacterial causes. Diarrhea of parasitic cause was the most important in southern Brazil and affected calves from three to 12 months of age. Another study is also presented, describing the epidemiological, clinical signs and pathology of an outbreak of cryptosporidiosis in calves in southern Brazil. Thirty-five out of 400 calves with 30-45 days of age were affected and 16 died. The calves were born weak and just after birth, they had yellow diarrhea, weight loss, dehydration, depression, and death between 10 and 15 days after onset of clinical signs. Congestion of the bowel and mesenteric blood vessels were observed at necropsy. Intestinal distension by gas and dilation of lymphatic vessels were also observed. Microscopically, the intestine showed flattening of the villi with necrosis and atrophy. Adhered to the surface of the villus epithelial cells there were round basophilic structures of 2- to 5- $\mu$ m diameter compatible with *Cryptosporidium* spp. The electron microscopy revealed the presence of different stages of the agent adhered to the microvilli of enterocytes. Cryptosporidiosis is an important cause of diarrhea in calves not only as an opportunistic agent, but also as a primary agent of diarrhea in calves.

**Keywords:** calves; diarrhea; cryptosporidiosis; retrospective study; gastrointestinal nematodes; *Escherichia coli*

## Lista de Figuras

### Artigo 2 Criptosporidiose em bovinos no Sul do Rio Grande do Sul

Figura 1	Bezerro com criptosporidiose apresentando fraqueza e diarreia amarela.....	31
Figura 2	Intestino delgado de bezerro com criptosporidiose distendido por gás. Observa-se congestão dos vasos sanguíneos e aumento dos linfonodos. Os vasos linfáticos estão dilatados.....	31
Figura 3	Formas parasitárias de <i>Cryptosporidium</i> spp. aderidas à superfície das vilosidades (setas). HE, obj. 40x.....	32
Figura 4	Estruturas arredondadas medindo 1,5-1,75µm de diâmetro que correspondem a trofozoítos de <i>Cryptosporidium</i> spp. aderidos às microvilosidades de enterócitos (setas).....	32

## Lista de Abreviaturas e Siglas

BCoV	Coronavírus Bovinos
BRV-A	Rotavírus Bovinos Grupo A
DAEC	<i>E. coli</i> difusamente aderente
EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EHEC	<i>E. coli</i> enterohemorrágica
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasiva
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigênica
L1	Larva de primeiro estágio
L3	Larva infectante
LT	Toxina Termolábil
MT	Mato Grosso
OPG	Ovos Por Grama de Fezes
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SNC	Sistema Nervoso Central
ST	Toxina Termoestável
TPB	Tristeza Parasitária Bovina

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>9</b>
<b>2 Revisão de Literatura.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 Fisiopatologia da diarreia.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2 Principais enteropatógenos associados à diarreia em bezerros:.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.1 Rotavírus.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.2 Coronavírus.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2.3 <i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.4 <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.5 Parasitose Gastrintestinal.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2.6 <i>Cryptosporidium</i> spp.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2.7 <i>Eimeria</i> spp.....</b>	<b>19</b>
<b>3 Artigos.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Artigo 1.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Artigo 2.....</b>	<b>29</b>
<b>4 Conclusões.....</b>	<b>34</b>
<b>Referências.....</b>	<b>35</b>

## **1 Introdução**

O Brasil é um dos maiores produtores de carne e leite bovino possuindo o maior rebanho comercial do mundo com 212,8 milhões de cabeças, sendo que desses, 37,3 milhões são de bovinos de leite. O Rio Grande do Sul possui um rebanho de 14,4 milhões de bovinos com cerca de 10% de cabeças destinadas a produção de leite (IBGE, 2011).

Diversos fatores interferem na cadeia produtiva de bovinos, como determinadas doenças que ocorrem no início da vida dos bezerros e podem interferir no desenvolvimento e produtividade desses animais quando adultos. Em bovinos de corte estas doenças podem levar ao atraso na idade de abate e nos bovinos leiteiros à queda na produtividade leiteira (BENESI, 1999). Dentre as principais enfermidades que causam perdas nas fases iniciais do desenvolvimento de bezerros estão a tristeza parasitária bovina (TPB), as pneumonias, as doenças do sistema nervoso central (SNC) e as enterites (ASSIS-BRASI et al., 2013).

Diarreia em bezerros é uma das causas mais comuns e importantes de perdas econômicas na cadeia produtiva de bovinos (UHDE et al., 2008; BARTELS et al., 2010; CHO et al., 2013). As perdas econômicas causadas pela diarreia estão ao redor de 20% a 52%, com custos totais em relação a doenças entéricas equivalentes a US\$ 33,46 bezerro/ano e com mortalidade podendo chegar até 34% (BOTTEON et al., 2008). Estima-se que mais de 50% das mortes de bezerros estão relacionadas à diarreia (CHO et al., 2010) e a mortalidade de bezerros decorrente de distúrbios entéricos seja cerca de 2% (OLIVEIRA FILHO et al., 2007).

Descreve-se que as principais causas de mortalidade em bezerros no Sul do Rio Grande do Sul estão relacionadas a problemas respiratórios e entéricos. As doenças do sistema digestório representam 60,97% dos casos, num período de 11 anos (ASSIS-BRASI et al., 2013).

Embora existam estudos nacionais sobre as doenças entéricas que acometem bezerros de leite e de corte, não há dados sobre a prevalência das causas de diarreia na nossa região. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar através de um estudo retrospectivo os principais distúrbios entéricos que acometem bovinos até um ano de idade na região sul do Rio Grande do Sul. Para isso foram consultados os protocolos de necropsia do Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária-UFPel e coletados os dados referentes às causas de diarreia em bezerros entre 1980 e 2014. Paralelamente foi relatado um surto de criptosporidiose em bezerros.

## 2 Revisão de Literatura

### 2.1 Fisiopatologia da diarreia

Diarreia é um sinal clínico de uma disfunção do trato digestório, caracterizada pelo aumento do número de evacuações ou presença de fezes que podem variar de consistência levemente amolecida até líquida (MILLEMANN, 2009).

Os principais patógenos associados à diarreia são: rotavírus bovino grupo A (BRV-A), coronavírus bovino (BCoV), *Salmonella* spp. (*Salmonella*), *Escherichia coli* (*E.coli*) K99<sup>+</sup>, *Clostridium perfringens* tipo C (*C. perfringens*) e *Criptosporidium* spp. (CHO et al., 2013; IÇEN et al., 2013). As causas não infecciosas estão relacionadas aos erros de manejo e a higiene do ambiente em que os animais se encontram (BARTELS et al., 2010).

Existem vários processos envolvidos na fisiopatologia da diarreia, mas os principais deles estão relacionados à secreção/hipersecreção intestinal, má absorção e má digestão de nutrientes. Esses processos podem ocorrer isoladamente ou, mais comumente pela combinação de dois ou mais fatores desses mecanismos (ARGENZIO, 1985; FOSTER & SMITH, 2009).

Diarreias secretórias ocorrem devido a estímulos anormais às criptas da mucosa intestinal. Esses estímulos podem ser provocados pela ação de enterotoxinas e/ou ação de mediadores da inflamação como, por exemplo, as prostaglandinas que provocam um aumento da secreção normal, causando um desequilíbrio nos processos fisiológicos de secreção e reabsorção intestinal, levando a diarreia (ARGENZIO, 1985).

Quando ocorre um dano na mucosa do intestino, como nos casos de infecções por vírus e protozoários, há uma alteração na absorção intestinal em decorrência de lesão nas células intestinais, comprometendo a absorção normal dos nutrientes, fluidos e eletrólitos. Nesses casos, não ocorre alteração na secreção intestinal (NAYLOR, 1999; FOSTER & SMITH, 2009).

Nos processos diarreicos, ocorrem perdas de água, nutrientes e eletrólitos (ARGENZIO, 1985; CONSTABLE et al., 1996). Normalmente as perdas de fluidos fecais são de aproximadamente 0,3% do peso corporal. Em casos de diarreias intensas, essas perdas podem atingir 13 a 18% do peso corpóreo em 24h (LEWIS & PHILIPS, 1972).

Bezerros possuem maior concentração de água em seu peso corpóreo em relação a animais adultos, correspondendo a 74% do peso total. Desses, 39% fazem parte do volume intracelular e 35% do ambiente extracelular (FAYET, 1971). Diarreias em bezerros causam redução do volume de água corporal com redução do volume do fluido extracelular e uma pequena expansão do fluido intracelular. Diarreias crônicas podem levar a morte de bezerros devido a importantes perdas de líquidos e eletrólitos (MICHELL, 1994; BERCHTOLD, 1999).

Os sinais clínicos dos distúrbios entéricos em bezerros são similares, independente da etiologia envolvida no processo. Cita-se como principais sinais clínicos diarreia, perda de peso, desidratação e acidose metabólica (MICHELL, 1994; BERCHTOLD, 1999; NAYLOR, 1999; RADOSTITIS et al., 2007).

## **2.2 Principais enteropatógenos associados à diarreia em bezerros:**

### **2.2.1 Rotavírus**

Vírus do gênero *Rotavírus* pertencem à família *Reoviridae* e são classificados em sete sorogrupos de A-G e em sorotipos de acordo com suas proteínas. O Rotavírus bovino grupo A (BRV-A) é o sorogrupo mais associado à diarreia em bezerros (HOLLAND, 1990; RADOSTITIS et al., 2007).

A infecção dos bezerros ocorre pela ingestão do vírus presente no ambiente, pois o vírus permanece estável caso a temperatura não se aproxime de 0°C (FOSTER & SMITH, 2009). Geralmente afeta animais com até três semanas de idade, com maior incidência em animais com seis dias, porém, pode afetar animais mais velhos (FOSTER & SMITH, 2009; NAYLOR, 2009). A severidade da doença pode ser determinada pela idade do bezerro, condições do ambiente onde vive o animal, falha na imunidade e associações com outros enteropatógenos. Animais doentes excretam o vírus pelas fezes, bem como bezerros assintomáticos podem também eliminar o agente (RADOSTITIS et al., 2007). A maioria dos casos de

infecção por Rotavírus são auto limitantes, apesar da alta morbidade (HOLLAND, 1990).

O vírus infecta e danifica as células da porção proximal do intestino delgado destruindo enterócitos da superfície das vilosidades, mantendo a integridade das criptas. Com a destruição das células maduras responsáveis pela absorção e digestão dos nutrientes, enterócitos imaturos migram das criptas para fazer essa função, porém, como ainda estão imaturos, ocorre o acúmulo de líquido no lúmen intestinal causando má digestão e má absorção (HOLLAND, 1990; FOSTER & SMITH, 2009; SAIF, 2011b). A diarreia é inicialmente bem aquosa, podendo tornar-se amarelada e pastosa. O período de incubação da doença é de aproximadamente 24h com resolução em até dois dias nos casos sem complicações (FOSTER & SMITH, 2009).

Para a realização do diagnóstico pode enviar-se ao laboratório fezes e/ou epitélio intestinal para detecção do antígeno pelo teste de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) e imunoperoxidase ou para identificação do agente através da microscopia eletrônica direta (ATHANASSIOUS et al., 1994).

### **2.2.2 Coronavírus**

Coronavírus bovino pertence à ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae* e ao gênero *Coronavírus*, com uma cadeia simples e não segmentada de RNA (SAIF, 2011a). É considerado um dos principais enteropatógenos responsáveis pela síndrome da diarreia neonatal em bezerros. Assim como o rotavírus, acomete animais nas primeiras semanas de vida, com pico de ocorrência dos sete aos 10 dias de vida (FOSTER & SMITH, 2009). No Brasil, em um estudo realizado para identificar a etiologia da diarreia em bezerros criados extensivamente, verificaram que dentre as causas virais, a maior prevalência de diarreia foi causada por Coronavírus (16%) em relação ao Rotavírus (11%) (OLIVEIRA FILHO et al., 2007). A transmissão ocorre por via oral ou aerossóis. Os sinais clínicos são semelhantes aos observados na infecção por rotavírus.

Os vírus do gênero *Coronavírus* são divididos em três grupos baseado em suas propriedades genéticas e sorológicas. O que acomete bovinos é o Coronavírus bovino (BCoV) que pertence ao grupo 2 e que pode se manifestar em três síndromes clínicas: a diarreia em bezerros, a diarreia de inverno em bovinos adultos

e a infecção respiratória em animais de várias idades (FOSTER e SMITH, 2009; SAIF, 2011a). O BCoV inicialmente afeta células da porção proximal do intestino delgado. Posteriormente, pode se espalhar por todo intestino delgado e grosso. Assim como o que ocorre nas infecções por rotavírus, as células infectadas morrem e são substituídas por células imaturas.

A diarreia por má absorção e má digestão se dá devido ao fato do vírus causar uma fusão das vilosidades no intestino delgado e a uma atrofia das criptas do cólon no intestino grosso. As perdas da área absorptiva juntamente com a presença de células imaturas reduzem a capacidade de absorção do intestino, porém as células mantêm parte da atividade secretora, ocasionando um aumento no volume de líquido na luz intestinal. A lactose não é digerida, pois as células imaturas não secretam enzimas digestivas e acaba se acumulando no lúmen intestinal aumentando a atividade microbiana e causando um desequilíbrio osmótico. O desequilíbrio osmótico atrai mais água para o intestino, agravando as perdas de eletrólitos e de água. Em casos graves, pode ocorrer acidose, desidratação e hipoglicemia, podendo levar a morte dos bezerros (CLARK, 1993).

O diagnóstico pode ser feito através do teste de ELISA, PCR ou microscopia eletrônica (ATHANASSIOUS et al., 1994).

### **2.2.3 *Escherichia coli***

A colibacilose é uma enfermidade causada pela *Escherichia coli* (*E. coli*) uma bactéria gram negativa, fermentativa, anaeróbica facultativa que cresce em meios simples, como ágar MacConkey, formando colônias vermelhas. É um microrganismo comensal do trato gastrointestinal de animais e normalmente colonizam o intestino, sem causar danos ao hospedeiro (HOLLAND, 1990; GYLES & FAIRBROTHER, 2010).

Existem seis patotipos de *E. coli* capazes de causar doenças entéricas nos animais e no homem. São eles: *E. coli* difusamente aderente (DAEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) (KAPER et al., 2004; MAHMOUD et al., 2013). O principal patotipo causador de diarreia em bezerros é a ETEC e acomete principalmente bezerros de até duas semanas de idade (FOSTER & SMITH, 2009; MOXLEY & SMITH, 2010).

A ETEC, após ser ingerida do ambiente contaminado, coloniza o intestino dos animais afetados e utiliza principalmente duas fímbrias de aderência para se fixar: a fímbria K99 (ou F5) e a fímbria F41 (ANDRADE et al., 2012). Depois de colonizar o epitélio intestinal, a bactéria produz dois principais tipos de enterotoxinas: a toxina termoestável (ST) e a toxina termolábil (LT). Elas estimulam a diarreia secretória, sem causar danos ao epitélio do intestino (FOSTER & SMITH, 2009). No Brasil, em um trabalho realizado com 205 amostras de *E.coli* isolada de fezes de bezerros com diarreia, em 49,75% destas amostras foram identificadas de cepas enterotoxigênicas (SALVADORI et al., 2003). A taxa de mortalidade em bezerros com diarreia por cepas enterotoxigênicas pode ser de 53,3% (GAMEZ et al., 2006).

Os sinais clínicos da colibacilose caracterizam-se por diarreia profusa, aquosa, amarelada ou esverdeada, desidratação, depressão, fraqueza, taquicardia ou bradicardia e, se não tratados, podem morrer por choque hipovolêmico. Nas primeiras 24 h de vida dos bezerros pode ocorrer a forma septicêmica (HOLLAND, 1990).

O diagnóstico pode ser feito pelo isolamento da bactéria nas fezes ou material do intestino por semeadura em meio não seletivo (ágar-sangue) ou meio seletivo (ágar MacConkey). A identificação é feita por caracterização bioquímica (SCHUCH, 2007). Os fatores de virulência da ETEC podem ser evidenciados pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (ANDRADE et al., 2012).

#### **2.2.4 *Salmonella* spp.**

Salmonelose é uma doença causada por bactérias do gênero *Salmonella* spp, que frequentemente estão associados à diarreia em bezerros. Existem mais de 2500 sorotipos de *Salmonella* spp., porém os sorovares mais associados a salmonelose em bezerros são Dublin e Typhimurium. No Brasil não há dados com relação às perdas econômicas causadas pela salmonelose em bezerros (PEREIRA et al., 2004). A transmissão ocorre através da via oro-fecal e a multiplicação inicial das bactérias é nas células das linhagens dos macrófagos e monócitos (SILVA et al., 2009).

A doença clínica em bezerros é mais comum de ocorrer em animais entre duas e seis semanas de idade. A morbidade pode ser alta atingindo 50%-75% dos animais e a mortalidade de 5%-10% (BARROS, 2007). A maioria dos sorotipos não

causa doenças sistêmicas, mas pode colonizar o intestino de diversas espécies animais e causar enterite (BARROW et al., 2010).

A contaminação pela bactéria nos bezerros pode ocorrer pelo colostro ou leite, equipamentos, ambiente, tratador ou tetos e úbere contaminados. No intestino, a bactéria se liga e invade aos enterócitos causando inflamação, necrose e atrofia das vilosidades com aumento da secreção intestinal, principalmente no final do intestino delgado e no intestino grosso (ARGENZIO, 1985; BARROW et al., 2010).

Na forma aguda em bezerros a doença se manifesta com diarreia aquosa, marrom, com fragmentos de mucosa, fibrina e odor fétido, normalmente predomina a febre desidratação e apatia (WRAY & DAVIES, 2000; BARROW et al., 2010). Os animais rapidamente ficam fracos e desidratados, e se não tratados, morrem de cinco a sete dias após o início dos sinais clínicos. Os animais que se recuperam normalmente não permanecem portadores (BARROW et al., 2010).

O diagnóstico é baseado no isolamento do agente nas fezes ou tecidos contaminados por sementeira em meios de enriquecimento seletivos (SCHUCH, 2007).

### **2.2.5 Parasitose Gastrintestinal**

Helmintos causam parasitismo na maioria dos bovinos criados extensivamente. Este parasitismo não, necessariamente, significa afirmar que os animais estão doentes. A maioria dos bovinos do rebanho podem apresentar um bom estado nutricional. Isto ocorre devido à competência imunológica do hospedeiro que tem a capacidade de controlar a população de endoparasitos (AMARANTE, 2005).

Os nematódeos mais importantes em bovinos no Sul do Brasil são dos gêneros *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia* spp., *Trichostrongylus axei*, *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp. e em menor número *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides papillosus*, *Trichuris* spp. e *Bunostomum* spp. (RUAS & BERNE, 2007).

O ciclo biológico da maioria dos nematódeos gastrintestinais ocorre em duas fases principais. Em uma primeira fase ocorre a infecção do hospedeiro que fica parasitado pelo parasito. Na segunda fase, o parasito está localizado em alguma porção do trato gastrintestinal tem vida livre e libera seus ovos na pastagem pelas

fezes. Na pastagem ocorre a eclosão dos ovos e desenvolvimento das larvas de primeiro estágio (L1) em larvas infectantes (L3). O período de desenvolvimento do ovo até a L3 pode variar de uma a seis semanas. Para que ocorra a sobrevivência e desenvolvimento das larvas, são necessárias condições ambientais adequadas. A infecção do hospedeiro ocorre principalmente por via oral pela ingestão das larvas infectantes (RUAS & BERNE, 2007).

Os sinais clínicos são anorexia, perda de peso, diarreia e anemia dependendo do agente envolvido na infecção. Os surtos normalmente ocorrem no período do desmame até dois anos de idade, e normalmente condições de estresse podem favorecer os sinais clínicos das parasitoses (RUAS & BERNE, 2007).

A maioria das infecções por nematódeos é mista e as consequências das helmintoses estão relacionadas ao número, a espécie de larvas que o animal é exposto e a quantidade de parasito no seu trato gastrointestinal. O grau de infecção depende de uma série de fatores ambientais como a temperatura, precipitação pluviométrica, tipo de solo e manejo das pastagens, que podem determinar as taxas de infestação das pastagens, do hospedeiro como a espécie, raça, idade e estado fisiológico e nutricional dos bovinos, bem como do próprio parasita como sua localização no hospedeiro e tipo de lesão por eles causados (RUAS & BERNE, 2007; WALLER, 2006).

O diagnóstico das parasitoses gastrintestinais deve ser baseado na observação dos sinais clínicos e dados epidemiológicos. A confirmação do diagnóstico é feita pela contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e a cultura de larvas das fezes (RUAS & BERNE, 2007).

Nos bovinos que morrem realiza-se necropsia para provável visualização dos parasitas no trato gastrointestinal e também para coleta de material para exame parasitológico.

#### **2.2.6 *Cryptosporidium* spp.**

Criptosporidiose é uma doença de ocorrência mundial causada por protozoários do gênero *Cryptosporidium* que pode acometer aves, répteis, anfíbios, peixes e mamíferos, inclusive o homem (RIEUX et al. 2013). Em bovinos tem sido mencionado que *C. parvum*, *C. andersoni*, *C. bovis* e *Cryptosporidium* genótipo

*deer-like* são as espécies mais prevalentes (FEITOSA et al., 2004; CARDOSO et al., 2008).

A doença é uma importante causa de diarreia em bezerros neonatos e ocorre nos animais nos primeiros dias de vida. Os animais adultos são considerados fonte de infecção para o ambiente e para o resto do rebanho, normalmente sendo portadores assintomáticos do parasita (MUNIZ NETA et al. 2010). Estes protozoários têm sido descritos como a segunda causa mais importante de diarreia em bezerros (DE GRAFF et al., 1999; BLANCHARD, 2012). Em uma revisão de trabalhos sobre criptosporidiose foram encontradas taxas de morbidade em bezerros variando entre 10% e 85%, com uma média de 25% (KIRPATRICK, 1985).

A infecção ocorre quando o animal ingere o oocisto através da água ou alimentos contaminados. Este oocisto, quando exposto aos sais biliares e ao ácido gástrico se encista, dando origem aos esporozoítos. Os esporozoítos invadem os enterócitos, principalmente do ílio, e se instalam para posterior transformação em trofozoítos. Neste estágio, começa a reprodução assexuada e são formados merontes tipo I. Então, são liberados merozoítos para o interior do lúmen. Estes organismos podem se diferenciar em meronte tipo I e meronte tipo II, que formam os microgametócitos (gametas masculinos) e os macrogametócitos (gametas femininos). Os microgametócitos e os macrogametócitos se reproduzem de forma sexuada dando origem a oocistos de parede fina e de parede espessa. Os oocistos de parede fina geram a autoinfecção e os oocistos de parede espessa são liberados no ambiente gerando contaminação ambiental (FOSTER & SMITH, 2009).

Os sinais clínicos são inespecíficos e se caracterizam por diarreia moderada, profusa e amarelada, podendo conter muco, sangue, anorexia, desidratação e depressão. A taxa de morbidade é elevada e a mortalidade é baixa, podendo se elevar quando há infecções com outros enteropatógenos (RADOSTITIS et al., 2007).

O agente causa diarreia por má absorção, pois causa atrofia das vilosidades pela perda dos vilos dos enterócitos e subsequente retração dos vilos para manter a barreira epitelial. Hiperplasia das criptas pode também ocorrer para tentar reverter à perda das células epiteliais.

Existem dois mecanismos que levam a perda das células epiteliais pelo *C. parvum*. O primeiro é pelo estímulo direto causado pelo efeito citotóxico do agente, embora esta teoria não esteja bem evidenciada na atual literatura. E o segundo mais

provável mecanismo é por apoptose (GOOKIN et al., 2002; FOSTER & SMITH, 2009).

Para realização do diagnóstico, se busca a identificação dos oocistos presentes nas fezes pelo método de Ziehl Neelsen modificado, que é uma técnica fácil de ser executada, rápida, tem baixo custo e boa sensibilidade (MUNIZ NETA et al., 2010).

### **2.2.7 *Eimeria* spp**

A Eimeriose é causada por várias espécies de protozoários do gênero *Eimeria*. Este protozoário é um parasito intracelular obrigatório que infecta células da mucosa intestinal de animais. A doença é transmitida por oocistos, que necessitam de temperatura e umidade ideais para seu desenvolvimento, manutenção e esporulação. Os bovinos se infectam ao ingerir oocistos esporulados na água, ração ou pastagem (BERNE & VIEIRA, 2007).

Os sinais clínicos podem se manifestar de forma aguda, caracterizando-se por enterite, diarreia branda ou severa com ou sem sangue, desidratação, pelos arrepiados, anemia, perda de peso, podendo ocorrer, inclusive, sinais nervosos (MEIRELES et al., 2012). Ao menos 12 espécies de *Eimeria* podem acometer bovinos. Dentre elas as *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. auburnensis*, *E. ellipsoidalis* e *E. alabamensis* são consideradas patogênicas (DUBEY et al., 2008).

Para o diagnóstico devem-se considerar os aspectos clínicos e as lesões macroscópicas através de raspados da mucosa intestinal com a finalidade de identificar a presença das formas evolutivas do parasita na mucosa. A análise coproscópica com identificação de oocistos nas fezes é feita com técnicas de flutuação com solução saturada de sacarose (BERNE & VIEIRA, 2007).

### **3 Artigos**

#### **3.1 Artigo 1**

**Diarreia em bezerros no sul do Rio Grande do Sul  
Sergio Farias Vargas Junior, Daniel Machado Alves, Rosimeri Zamboni,  
Clairton Marcolongo Pereira, Ana Lucia Schild, Eliza Simone Viégas Sallis  
Será submetido à Ciência Rural**

**Diarreia em bezerros no sul do Rio Grande do Sul****Diarrhea in calves in southern Rio Grande do Sul**

Sergio Farias Vargas Junior<sup>I</sup>, Daniel Machado Alves<sup>I</sup>, Rosimeri Zamboni<sup>I</sup>, Clairton

Marcolongo Pereira<sup>II\*</sup>, Ana Lucia Schild<sup>II</sup>, Eliza Simone Viégas Sallis<sup>I\*\*</sup>

Vargas Jr S.F., Alves D. M, Zamboni R, Marcolongo-Pereira C, Schild A.L. & Sallis E.S.V. 2015. [**Diarrhea in calves in southern Rio Grande do Sul.**] Diarreia em bezerros no sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira XX(X):XX-XX*. Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Pelotas, RS 96010-900, Brazil. E-mail:esvsallis@yahoo.com.br

**-NOTA-**

**RESUMO.-**

Foi realizado um estudo retrospectivo dos diagnósticos das causas de diarreia em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul entre 1980 a 2014. Foram revisados os protocolos de necropsia e materiais desta espécie encaminhados ao Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. Foram diagnosticados 94 casos de bezerros com diarreia, destes, 44,7% foram de causas parasitárias e 34,0% de causas bacterianas. Diarreia de causa parasitária foi a mais importante na região sul do Rio Grande do Sul e afetou bezerros de três a 12 meses de idade. A ocorrência de diarreia em animais mesmo lactentes pode estar associada a fatores ambientais e a forma de manejo no qual esses animais são mantidos. As enfermidades bacterianas foram, também, importantes causas de diarreia em bezerros de até três meses de idade na região.

**Palavras-chave:** bezerros, diarreia, nematódeos gastrintestinais, *Escherichia coli*

**ABSTRACT.-**

---

<sup>I</sup> Faculdade de Veterinária (FV), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. Email: esvsallis@yahoo.com.br\*\*Autor para correspondência.

<sup>II</sup> Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD), FV, UFPel, Pelotas, RS, Brasil. \*Bolsista de Pós Doutorado Júnior, CNPQ (Proc 150246/2014-5).

1           A retrospective study of causes of diarrhea in calves in southern Rio Grande do Sul  
2 was conducted between 1980 and 2014. All necropsy protocols and materials received in the  
3 Regional Diagnostic Laboratory of the Veterinary School of the Federal University of Pelotas  
4 were reviewed. Ninety-four cases of calves with diarrhea were diagnosed, of these, 44.7%  
5 were caused by parasitic infections and 34.0% by bacterial infections. Parasites as cause of  
6 diarrhea was the most important diagnostic in southern Rio Grande do Sul and affected calves  
7 from three to 12 months of age. The occurrence of diarrhea in animals even infants may be  
8 associated with environmental factors and the form of management that these animals are  
9 kept. Bacterial diseases are also important causes of diarrhea in calves up to three months of  
10 age in the region.

11 **Key words:** calves, diarrhea, gastrointestinal nematodes, *Escherichia coli*.

12           Distúrbios entéricos que cursam com diarreia em bezerros é uma das causas mais  
13 comuns e importantes de perdas econômicas na cadeia produtiva de bovinos, pois acarreta  
14 perdas relacionadas com gastos com tratamento, queda dos índices de produtividade e morte  
15 dos animais acometidos (LANGONI et al., 2004; CHO et al., 2013). A diarreia dos bezerros é  
16 considerada uma síndrome de causa multifatorial, relacionada a agentes infecciosos e fatores  
17 não infecciosos, como o manejo e o ambiente (BENESI, 1999).

18           No Brasil há estudos que comprovam a importância das diarreias como causa de  
19 mortalidade neonatal em bezerros leiteiros (LANGONI et al., 2004). Em bovinos de corte são  
20 escassos os estudos que descrevem a casuística de diarreia no país, apesar dos prejuízos  
21 econômicos causados pelo distúrbio (OLIVEIRA FILHO et al., 2007). Em um estudo  
22 realizado no sul do Rio Grande do Sul, num período de 11 anos, foi observado que as  
23 principais causas de mortalidade em bezerros estavam relacionadas a problemas respiratórios  
24 e entéricos. Das doenças entéricas observadas, 60,9% cursavam com diarreia (ASSIS-  
25 BRASIL et al., 2013).

1 Os objetivos deste trabalho foram determinar as principais causas de diarreia em  
2 bezerros na região sul do Rio Grande do Sul.

3 Foram revisados os protocolos de necropsia e/ou materiais de bovinos recebidos no  
4 Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de  
5 Pelotas (LRD/UFPel) entre janeiro de 1980 e dezembro de 2014. Desses protocolos foram  
6 extraídas informações referentes ao número total de bezerros e o número total de bezerros  
7 com histórico clínico de diarreia. Foram coletados, também, dados referentes à idade, sexo,  
8 raça e o material enviado para diagnóstico, época do ano, bem como a etiologia da diarreia.  
9 Os diagnósticos foram distribuídos por faixa etária em bezerros de um dia a três meses,  
10 bezerros entre quatro-sete meses e bezerros entre oito-12 meses de idade, e foram agrupados  
11 de acordo com a etiologia e a faixa etária. Nos casos em que apenas o diagnóstico  
12 morfológico era mencionado no protocolo de necropsia e/ou materiais recebidos, os  
13 diagnósticos foram agrupados em diagnósticos indeterminados. Nos protocolos em que o  
14 diagnóstico não foi estabelecido os casos foram considerados inconclusivos.

15 De um total de 6.222 necropsias e/ou materiais de bovinos recebidos no LRD/UFPel  
16 entre janeiro de 1980 e dezembro de 2014, 1.139 (18,3%) corresponderam a bezerros, destes,  
17 216 (19%) tinham patologias do trato gastrintestinal e 94 (43,5%) eram de bovinos de até 12  
18 meses de idade com quadro clínico de diarreia.

19 Dos materiais encaminhados para diagnóstico, 54 eram provenientes de cadáveres, 27  
20 de amostras de fezes e 13 eram fragmentos de intestino. Destes, 42 casos corresponderam a  
21 doenças parasitárias, 32 casos a doenças bacterianas, 17 casos a diagnósticos indeterminados,  
22 um caso foi presuntivo de rotavírus e dois casos foram inconclusivos.

23 Dos diagnósticos observados, as doenças bacterianas tiveram 28 casos de infecção por  
24 *Escherichia coli* e quatro casos de infecção por *Salmonella* spp. Os nematódeos  
25 gastrintestinais tiveram 37 casos, nos quais seis eram infecção por *Haemonchus* spp., quatro

1 eram de *Ostertagia* spp., três de *Moniezia* spp., três da família Strongyloidea e um caso de  
2 *Cooperia* spp.. Em nove casos foi observado infecção mista por mais de um nematódeo  
3 gastrointestinal e em 11 casos não foi mencionado o parasita envolvido na infecção. Com  
4 relação à infecção por protozoários, eimeriose foi diagnosticada em quatro casos e em um  
5 caso criptosporidiose. Em 17 casos os diagnósticos foram indeterminados.

6 Dos 94 casos de bezerros com diarreia, 46 animais tinham idade entre um dia e três  
7 meses; 17 casos tinham entre quatro e sete meses; 30 casos tinham entre oito e 12 meses e em  
8 um caso a idade não estava especificada no protocolo.

9 Com relação à raça dos bezerros afetados, 48 eram das raças leiteiras (28 da raça  
10 Holandês e 20 da raça Jersey) e 24 eram de raças de corte (oito da raça Hereford, sete da raça  
11 Aberdeen, seis da raça Charolês e três da raça Devon). Em 17 casos os animais não tinham  
12 raça definida e em cinco casos a raça não constava no protocolo de necropsia.

13 Os resultados do presente estudo demonstraram que das causas de diarreia que  
14 afetaram bezerros até um ano de idade, a diarreia parasitária foi à causa mais importante na  
15 região sul do Rio Grande do Sul. Parasitoses por nematódeos gastrintestinais em bezerros são  
16 as principais causas de enfermidades do trato digestivo a partir dos seis meses de idade, tendo  
17 em vista que bovinos são mais suscetíveis a parasitoses a partir do desmame, que é realizado  
18 frequentemente nesta faixa etária (ASSIS-BRASIL et al. 2013). Por outro lado, nesse estudo  
19 as enfermidades causadas por parasitas gastrintestinais ocorreram em animais com idades  
20 variando de três a 12 meses, o que sugere a susceptibilidade desses animais às infecções por  
21 esses agentes. Provavelmente a contaminação do ambiente foi um dos fatores que contribuiu  
22 para o aumento da casuística das parasitoses em bezerros com menos de seis meses de idade  
23 neste estudo.

24 Não foi observada relação entre as estações do ano e os casos de diarreia por  
25 parasitose. Fatores ambientais como temperatura, precipitação pluviométrica, solo, tipo e

1 manejo de pastagem podem influenciar na maior prevalência das infecções por nematódeos  
2 gastrintestinais (RUAS; BERNE, 2007). Provavelmente esses fatores podem, também, ter  
3 certa influência no desenvolvimento das outras causas de diarreia observada neste trabalho.  
4 Entretanto, não foi, também, observado relação das estações do ano com os demais agentes.

5 Eimeriose ocorreu em 4,3% dos casos de diarreia em bezerros nesse estudo. A  
6 enfermidade geralmente está associada à ingestão de água e alimentos contaminados com o  
7 coccidio. Condições precárias de higiene, a alta densidade de animais e umidade excessiva  
8 favorecem ao aparecimento da doença (RADOSTITS et al., 2007). Os casos aqui relatados  
9 provavelmente ocorreram devido ao manejo utilizado nas propriedades, nas quais geralmente  
10 utilizam o mesmo ambiente para cria dos bezerros por várias gerações.

11 Diarreia por *Cryptosporidium* spp. foi observado em um surto no qual 8,7% dos  
12 animais adoeceram e 4% morreram. Esta enfermidade é considerada uma importante causa de  
13 diarreia em bezerros, geralmente associada a outros agentes (RADOSTITS et al., 2007).  
14 Nesse surto não foi observado associação do *Cryptosporidium* spp com outros  
15 enteropatógenos. Tem sido mencionado que este agente pode ser causa primária de diarreia  
16 em bezerros (De GRAFF et al., 1999).

17 Com relação às enfermidades causadas por bactérias, a infecção por *Escherichia coli*  
18 foi a doença mais frequentemente diagnosticada com 29,8% dos casos. Em outros estudos de  
19 causas de diarreia em bezerros a infecção por *E. coli* foi a mais frequente, principalmente nas  
20 primeiras semanas de vida, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade  
21 nessa espécie (LANGONI et al., 2004). Infecções por esta bactéria ocorrem principalmente  
22 em bezerros jovens, com até três meses de idade devido a imaturidade imunológica, tornando-  
23 os mais suscetíveis à ação de cepas patogênicas (MAGALHÃES et al., 1991), como foi  
24 observado nesse estudo, no qual bezerros de até três meses de idade foram os mais  
25 acometidos.

1            Infecção por *Salmonella* spp. foi a segunda causa bacteriana mais frequente de diarreia  
2 em bezerros com 4,3% dos casos. Infecções por *Salmonella* spp. ocorrem por contaminação  
3 de alimentos e fômites e geralmente acometem bezerros com mais de um mês de idade,  
4 podendo ocorrer, também, em animais mais jovens nas formas septicêmica ou entérica  
5 (BENESI 1999). No presente trabalho os animais infectados tinham idade variando de sete  
6 dias a três meses e apenas a forma entérica foi observada. No Brasil a ocorrência de  
7 salmonelose em bezerros como causa de diarreia é pouco descrita (SCHUCH, 2007).

8            No presente estudo infecção por rotavírus foi diagnosticada presuntivamente em um  
9 caso e infecção por coronavírus não foi observada. Provavelmente, isso pode ser em  
10 consequência do material encaminhado para o laboratório e/ou das técnicas de detecção  
11 utilizadas. Entretanto, esses agentes podem estar associados às infecções bacterianas e  
12 parasitárias observadas nesse estudo. Infecções mistas por esses vírus têm sido mencionadas  
13 como causa de diarreias em bezerros (MILLEMANN 2009). Em um estudo de diarreia em  
14 bezerros nelore no Brasil, rotavírus foi diagnosticado em 11% dos casos, causando diarreia  
15 em associação a outros agentes ou isoladamente (OLIVEIRA FILHO et al., 2007).

16            Com relação às raças de bezerros com diarreia, o maior número de casos foi observado  
17 nas raças leiteiras do que nas raças de corte. Isto, possivelmente deve-se ao sistema de criação  
18 adotado nas propriedades leiteiras da região e a contaminação do ambiente em que esses  
19 animais são mantidos até o desaleitamento.

20            No presente estudo a taxa de morbidade variou de 0,6 a 72,2% e a mortalidade de 0,2 a  
21 60%. Em outro estudo sobre as causas de diarreia em bezerros de leite foram observadas taxas  
22 de morbidade de até 100% e de mortalidade de 50% (LANGONI et al., 2004). As altas taxas  
23 de morbidade e mortalidade observadas no presente estudo demonstram a importância  
24 econômica da diarreia para a região sul do Rio Grande do Sul, em que as perdas não estão  
25 relacionadas apenas as mortes dos animais, mas também, aos gastos com tratamento.

1 Com base nos resultados do presente estudo pode-se concluir que a diarreia de causa  
2 parasitária é a mais importante na região sul do Rio Grande do Sul e que a sua ocorrência em  
3 animais mesmo lactentes pode estar associada a fatores ambientais e a forma de manejo no  
4 qual esses animais são mantidos. As enfermidades bacterianas foram, também, importantes  
5 causas de diarreia em bezerros de até três meses de idade na região. Deve-se ressaltar a  
6 importância da realização do diagnóstico a fim de se adotar medidas preventivas para  
7 minimizar os prejuízos econômicos causados pela diarreia em bezerros.

## 8 REFERÊNCIAS

- 9 ASSIS-BRASIL, N. D. et al. Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do RS.  
10 Pesquisa Veterinária Brasileira, v.33, p.423-430, 2013. Disponível em: <  
11 [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2013000400002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2013000400002&script=sci_arttext)>.  
12 Acesso em: 12 jan. 2015.
- 13 BENESI, F.J. Síndrome diarreia dos bezerros. Revista CRMV-ES, Vitória. v.2, n.3, p.10-13,  
14 1999.
- 15 CHO, Y-LL. et al. Case-control study of microbiological etiology associated with calf  
16 diarrhea. Veterinary Microbiology, v.166, p.375-385, 2013. Disponível em:  
17 <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113513003337>>. Acesso em: 12 jan.  
18 2015.
- 19 De GRAFF, D.C. et al. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals.  
20 International Journal for Parasitology, v.29, p.1269-1287, 1999.
- 21 LANGONI, H et al. Contribution to the study of diarrhea etiology in neonate dairy calves in  
22 SP state, Brazil. Bras. J. Vet. Res, Anim Sci., SP, v. 41, p.313-319, 2004.
- 23 MAGALHÃES, H. et al. Ocorrência, aspectos bacteriológicos e histopatológicos na  
24 colibacilose de bezerros. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v.26, n. 4, p.555-564, 1991.

- 1 MILLEMANN, Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhea. *Revue Méd. Vét.* v.160, p.404-409,
- 2 2009.
- 3 OLIVEIRA FILHO, J.P. et al. Diarreia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente:
- 4 estudo clínico e etiológico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.27, p. 419-424, 2007.
- 5 RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; et al. *Veterinary Medicine: A textbook*
- 6 *of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th edition. Philadelphia: Elsevier,
- 7 2007. 2156 p.
- 8 RUAS, J.L; BERNE, M.E.A. Parasitoses por nematódeos gastrintestinais em bovinos e
- 9 ovinos, p.584-604. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A. & BORGES,
- 10 J.R.J. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Equideos*. Vol.1.3ª ed. Pallotti, Santa Maria, 2007.
- 11 SCHUCH, L.F.D. Diarreia em bezerros, p.496-508. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.;
- 12 LEMOS, R.A.A. & BORGES, J.R.J. *Doenças de Ruminantes e Equideos*. Vol.1. 3ª ed.
- 13 Pallotti, Santa Maria, 2007.

### 3.2 Artigo 2

**Surto de criptosporidiose em bezerros no Sul do Rio Grande do Sul  
Sergio F. Vargas Jr, Clairton Marcolongo-Pereira, Maria de Lourdes Adrien,  
Letícia Fiss, Kayane R. Molarinho, Mauro Pereira Soares, Ana Lucia Schild,  
Eliza Simone V. Sallis.**

**Publicado na Pesquisa Veterinária Brasileira**

## Surto de criptosporidiose em bezerros no Sul do Rio Grande do Sul<sup>1</sup>

Sergio F. Vargas Jr<sup>2</sup>, Clairton Marcolongo-Pereira<sup>3\*</sup>, Maria de Lourdes Adrien<sup>3</sup>, Letícia Fiss<sup>2</sup>, Kayane R. Molarinho<sup>4</sup>, Mauro Pereira Soares<sup>3</sup>, Ana Lucia Schild<sup>3</sup> e Eliza Simone V. Sallis<sup>3\*\*</sup>

**ABSTRACT.-** Vargas Jr S.F., Marcolongo-Pereira C., Adrien M.L., Fiss L., Molarinho K.R., Soares M.P., Schild A.L. & Sallis E.S.V. 2014. [Outbreak of cryptosporidiosis in calves in Southern Brazil.] Surto de criptosporidiose em bezerros no Sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(8):749-752. Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Pelotas, RS 96010-900, Brazil. E-mail: esvsallis@yahoo.com.br

This paper describes the epidemiology, clinical signs and pathology of an outbreak of cryptosporidiosis in calves in Southern Brazil. Thirty-five out of 400 calves with 30-45 days of age were affected and 16 died. The calves were born weak and just after birth they had yellow diarrhea, weight loss, dehydration, depression, and death between 10 and 15 days after onset of clinical signs. Congestion of the bowel and mesenteric blood vessels were observed at necropsy. Intestinal distension by gas and dilation of lymphatic vessels were also observed. Microscopically, the intestine showed flattening of the villi with necrosis and atrophy. Adhered to the surface of the villus epithelial cells there were round basophilic structures of 2- to 5- $\mu$ m-diameter compatible with *Cryptosporidium* spp. Electron microscopy revealed the presence of different stages of the agent adhered to the microvilli of enterocytes. We alert the importance of cryptosporidiosis as a primary agent of diarrhea in calves. Preventive measures to reduce economic losses, environmental contamination, and also decrease of risk for public health are necessary.

INDEX TERMS: Cryptosporidiosis, *Cryptosporidium* spp., calves, diarrhea.

**RESUMO.-** Descrevem-se os aspectos epidemiológicos, sinais clínicos e a patologia de um surto de criptosporidiose em bezerros na região Sul do Rio Grande do Sul. De um lote de 400 bezerros de 30-45 dias de idade, 35 adoeceram e 16 morreram. Os bezerros nasciam fracos e logo após o nascimento apresentavam diarreia amarela, emagrecimento progressivo, desidratação, depressão e morte entre 10 e 15 dias após o início dos sinais clínicos. Na necropsia havia congestão dos vasos sanguíneos intestinais e mesentéricos. Havia distensão intestinal por gás e dilatação de vasos linfáticos. Microscopicamente havia achatamento das vilosidades in-

testinais, com necrose e atrofia. Aderidas à superfície das células epiteliais das vilosidades, havia estruturas puntiformes basofílicas de 2-5 $\mu$ m de diâmetro compatíveis com *Cryptosporidium* spp. A microscopia eletrônica revelou a presença de diferentes estágios do agente aderidos às microvilosidades de enterócitos. Alerta-se para a importância da criptosporidiose como agente primário de diarreia em bezerros. São necessárias medidas preventivas no que se refere ao manejo para diminuir as perdas econômicas e a contaminação ambiental, e, ainda, diminuir o risco para a saúde pública.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Criptosporidiose, *Cryptosporidium* spp., bezerros, diarreia.

<sup>1</sup> Recebido em 21 de maio de 2014.

Aceito para publicação em 8 de julho de 2014.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária (FV), Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Campus Universitário s/n, Pelotas, RS 96010-900, Brasil.

<sup>3</sup> Laboratório Regional de Diagnóstico, FV-UFPEL, Campus Universitário s/n, Pelotas, RS. \*Bolsista PDJ, CNPq (proc. 150246/2014-5). \*\*Autor para correspondência: esvsallis@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Graduanda em Veterinária, FV-UFPEL, Pelotas, RS.

### INTRODUÇÃO

Criptosporidiose é uma enfermidade de ocorrência mundial causada por protozoários do gênero *Cryptosporidium*, que infectam uma ampla gama de hospedeiros (mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes), inclusive o homem (Rieux et al. 2013). Em bovinos tem sido mencionado que *Cryptosporidium parvum*, *C. andersoni*, *C. bovis* e *Cryptosporidium*

genótipo *deer-like* são as espécies mais prevalentes (Feitosa et al. 2004, Cardoso et al. 2008).

O papel do *C. parvum* como causa de diarreia em bovinos é controverso, uma vez que pode ser encontrado em animais saudáveis. Por outro lado, este protozoário é considerado importante como causa de diarreia em neonatos infectados naturalmente (Radostits et al. 2007). Mais frequentemente age como oportunista em conjunto com outros enteropatógenos, levando a dano intestinal e diarreia (Radostits et al. 2007). Alguns autores descrevem que este protozoário é a segunda causa mais importante de diarreia em bezerros (Moore & Zeman 1991, De Graff et al. 1999, Blanchard 2012). Os animais adultos são considerados fontes de infecção para o ambiente e para o resto do rebanho, normalmente sendo portadores assintomáticos (Muniz Neta et al. 2010).

Criptosporidiose pode causar sérios prejuízos econômicos, como retardo no crescimento, mortalidade e gastos com medicamentos (Olson et al. 2004, Santín et al. 2008). No Brasil tem sido relatada a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes de bovinos nos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro (Souza & Lopes 1995, Ederli et al. 2004, Feitosa et al. 2004, Almeida et al. 2008, Cardoso et al. 2008). Surto de criptosporidiose foram relatados no Canadá (Sanford & Josephson 1982, Wright et al. 1995) e nos Estados Unidos sendo que neste último havia associação com salmonelose (Cesaro et al. 2014).

O objetivo deste estudo foi descrever os aspectos epidemiológicos, sinais clínicos e a patologia de um surto de criptosporidiose em bezerros na região Sul do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi recebido no Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD/UFPel), um bezerro proveniente de uma propriedade localizada no município de Cristal (30° 59' 59" S, 52° 02' 54" W), Rio Grande do Sul, apresentando debilidade e diarreia amarela. Na propriedade havia histórico de mortalidade em bezerros com diarreia e emagrecimento progressivo desde o ano anterior. Os dados epidemiológicos e os sinais clínicos foram obtidos com o médico veterinário encarregado da propriedade. O bezerro foi eutanasiado *in extremis* e necropsiado. Fragmentos de todos os órgãos, incluindo o sistema nervoso central foram fixados em formalina 10%, processados rotineiramente e corados com hematoxilina e eosina (HE). Foram coletadas fezes para pesquisa de enterobactérias e nematódeos gastrintestinais. Fragmentos de intestino foram fixados em solução de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 2% em solução tamponada de cacodilato de sódio, desidratados em etanol e embebidos em resina Epon 812. Cortes semifinos foram corados com azul de metileno e cortes ultrafinos foram feitos das áreas selecionadas. O material foi contrastado com acetato de urânio e citrato de chumbo e observado a 80 kV em microscópio de transmissão Zeiss EM 109 – West Germany.

## RESULTADOS

O surto ocorreu em novembro de 2012 em um lote de 400 bezerros, dos quais 35 (8,75%) adoeceram e 16 (4%) morreram. Os bovinos eram fêmeas de aproximadamente 30-45 dias de idade, sem raça definida.

Os bezerros nasciam fracos e logo após o nascimento apresentavam diarreia amarela (Fig.1), emagrecimento progressivo, desidratação, depressão e morte entre 10 e 15 dias após o início dos sinais clínicos. Os bovinos eram mantidos em campo nativo e, segundo o veterinário, no ano 2011 cerca de 70 bezerros morreram com sinais clínicos semelhantes e várias tentativas de diagnóstico em exames parasitológicos e culturas fecais foram realizadas sem sucesso. Tanto no surto de 2011 como em 2012 os bezerros com sinais clínicos foram tratados com dipirona e oxitetraciclina, também, sem que houvesse resposta positiva dos animais. As vacas mães dos bezerros eram vacinadas para diarreias neonatais e contra as doenças reprodutivas [rinotraqueite infecciosa bovina (IBR)/diarreia viral bovina (DVB) e leptospirose].

Na necropsia do bezerro encaminhado ao LRD/UFPel, macroscopicamente havia congestão dos vasos sanguíneos intestinais e mesentéricos. O intestino delgado apresentava distensão, com presença de gás e com conteúdo esverdeado. O intestino grosso estava, também, distendido, os linfonodos mesentéricos estavam aumentados de tamanho e os vasos linfáticos dilatados (Fig.2).



Fig.1. Bezerro com criptosporidiose apresentando fraqueza e diarreia amarela.

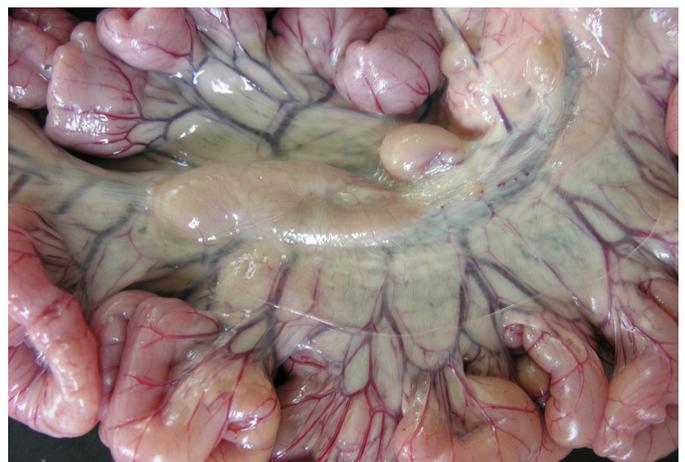


Fig.2. Intestino delgado de bezerro com criptosporidiose distendido por gás. Observa-se congestão dos vasos sanguíneos e aumento dos linfonodos. Os vasos linfáticos estão dilatados.

As lesões histológicas caracterizaram-se por necrose e achatamento das vilosidades intestinais, resultando na atrofia das mesmas. Havia congestão dos vasos sanguíneos da lâmina própria com infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos e raros eosinófilos. Aderidas à superfície das células epiteliais das vilosidades, havia estruturas puntiformes basofílicas de 2-5µm de diâmetro compatíveis com *Cryptosporidium* spp. (Fig.3). Ultraestruturalmente foram observadas estruturas arredondadas medindo 1,5 a 1,75 µm de diâmetro, as quais se encontravam aderidas à microvilosidades dos enterócitos e correspondiam a trofozoítos de *Cryptosporidium* spp. (Fig.4). Havia, também, hiperplasia dos folículos linfóides do intestino. Na cultura bacteriológica das fezes não houve crescimento bacteriano e o exame parasitológico foi negativo.

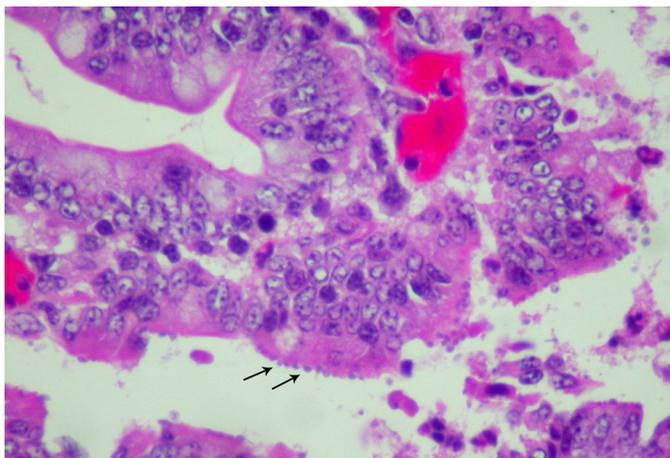


Fig.3. Formas parasitárias de *Cryptosporidium* spp. aderidas à superfície das vilosidades (setas). HE, obj.40x.

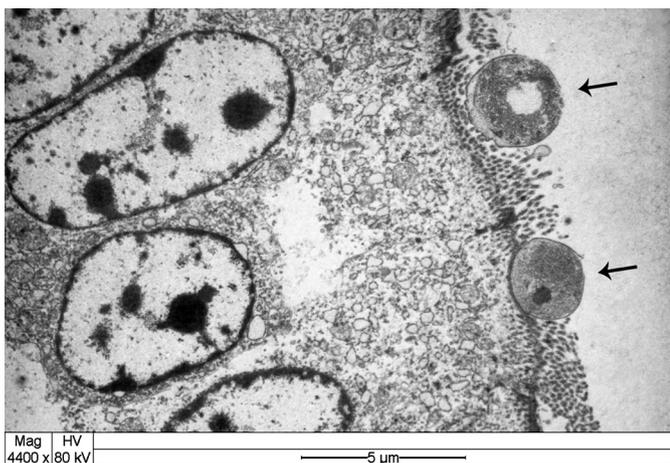


Fig.4. Estruturas arredondadas medindo 1,5-1,75µm de diâmetro que correspondem a trofozoítos de *Cryptosporidium* spp. aderidos às microvilosidades de enterócitos (setas).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O diagnóstico de criptosporidiose foi realizado com base nos dados epidemiológicos, sinais clínicos, lesões macroscópicas e histológicas e presença do agente nas células epiteliais das vilosidades intestinais.

Tem sido descrito que apesar de *Cryptosporidium* ser considerado um patógeno oportunista pode ser causa primária de diarreia em bezerros (Panciera et al. 1971, Sanford & Josephson 1982, Moore & Zeman 1991, De Graff et al. 1999). A mortalidade ocorre em geral quando o *Cryptosporidium* está associado a outros patógenos entéricos (De Graff et al. 1999). No entanto, em um estudo sobre a criptosporidiose no Canadá outros agentes patogênicos que causam diarreia em bezerros foram identificados em menos de 50% dos casos de diarreia (Sanford & Josephson 1982, Moore & Zeman 1991).

A doença tem sido descrita em outros países como Estados Unidos e Canadá ocorrendo nos meses de inverno quando os bezerros são confinados em espaços reduzidos favorecendo a contaminação pelos oocistos (Anderson & Bulgin 1981, Sanford & Josephson 1982). No presente relato o surto ocorreu na primavera, época da parição na região Sul do Brasil, que é quando as vacas eliminam o maior número de oocistos nas fezes. Animais adultos são considerados fontes de infecção para o ambiente e para o resto do rebanho, normalmente sendo portadores assintomáticos do parasita (Muniz Neta et al. 2010). Apesar da criação extensiva neste caso, os animais nasciam em uma mesma área na qual se contaminavam. Tem sido demonstrado que bezerros afetados e vacas infectadas podem eliminar grande quantidade de oocistos nas fezes, razão pela qual o local de parição estava aparentemente altamente contaminado, favorecendo a infecção dos neonatos. A morte de cerca de 70 bezerros no ano anterior com os mesmos sinais clínicos reforça esta hipótese. Surtos anuais de criptosporidiose podem ocorrer na mesma propriedade, devido à persistência dos oocistos infectantes no ambiente (Angus 1987, Feitosa et al. 2008).

A doença ocorreu de forma aguda e grave, com mortalidade, aparentemente sem associação de outros agentes bacterianos, já que não houve crescimento nas culturas realizadas. Os patógenos virais (coronavírus e rotavírus) poderiam estar associados ao *Cryptosporidium* como agentes etiológicos da diarreia, no entanto o isolamento viral não foi realizado. Por outro lado, estes vírus afetam bezerros mais jovens geralmente até 14 dias de idade (Radostits 2007). Outro fato que reforça a possibilidade de *Cryptosporidium* spp. ter sido a causa primária foi que a mudança no manejo da propriedade com eliminação da área de parição controlou a mortalidade e nos anos subsequentes não ocorreram casos de diarreia entre os bovinos nascidos. Em um estudo de 277 casos de criptosporidiose nos Estados Unidos foi demonstrado que é possível o desenvolvimento de doença aguda grave em bezerros pela infecção por *Cryptosporidium* spp. sem associação de outros patógenos (Moore & Zeman 1991).

O tratamento utilizado na propriedade sem sucesso reforça a infecção por *Cryptosporidium* spp. em dois anos consecutivos, já que é mencionado que este protozoário é resistente a antibióticos e antiparasitários comuns e permanece no solo por vários meses, principalmente no verão, sendo também altamente resistente a desinfetantes o que dificulta a descontaminação ambiental (Blanchard 2012).

Outro fato que deve ser mencionado é que no ano 2011 o diagnóstico da doença não foi realizado após inúmeros

exames fecais dos bovinos afetados. Tem sido mencionado que a realização de exame parasitológico de fezes tem baixa eficiência para realizar o diagnóstico de criptosporidiose além de não ser possível determinar a gravidade da doença somente por este exame (Moore & Zeman 1991). Esta poderia ser a razão pela qual o diagnóstico da doença não foi confirmado no ano anterior. A presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em bezerros tem sido relatada em diferentes Estados brasileiros, no entanto a presença do oocisto nas fezes não implica em doença clínica (Radostits et al. 2007).

Alerta-se para a importância da criptosporidiose não só como um agente oportunista, mas também como agente primário de diarreia em bezerros. Medidas preventivas devem ser tomadas, relacionadas ao manejo de vacas na época da parição evitando a aglomeração de animais e a contaminação ambiental para diminuir as perdas econômicas, além de evitar os riscos para a saúde pública advindos da infecção.

## REFERÊNCIAS

- Almeida A.J., Oliveira F.C.R. & Teixeira C.S. 2008. Risco relativo da infecção por parasitos do gênero *Cryptosporidium* em bezerros bovinos no norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revta Bras. Parasitol. Vet.* 17(Supl.1):243-248.
- Anderson B.C. & Bulgin M.S. 1981. Enteritis caused by *Cryptosporidium* in calves. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 76(6):865-868.
- Angus K.W. 1987. Cryptosporidiosis in domestic animals and humans. In *Practice* 9:47-49.
- Blanchard P.C. 2012. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Vet. Clin. Food Anim.* 28:443-464.
- Cardoso J.M.S., Silveira F.L., Araújo A.J.U.S., Carvalho J.C.C. & Kanamura H.Y. 2008. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em um rebanho bovino leiteiro no município de Caçapava, estado de São Paulo, Brasil. *Revta Bras. Parasitol. Vet.* 17(Supl.1):239-242.
- Cesaro M.P., Pierezan F., Heins B.D. & Brown C.C. 2014. Pathology in practice. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 244(1):53-55.
- De Graff D.C., Vanopdenbosch E., Ortega-Mora L.M., Abbassi H. & Peeters J.E. 1999. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int. J. Parasitol.* 29:1269-1287.
- Ederli B.B., Carvalho C.B. & Sales L.G. 2004. Ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* em bezerros na microrregião de Campos dos Goytacazes no Norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revta Bras. Parasitol. Vet.* 13:45-48.
- Feitosa T.F., Shimamura G.M., Roberto T., Mendes L.C.N., Peiró J.R., Féres F.C., Bovino F., Perri S.V.P. & Meireles M.V. 2008. Importância de *Cryptosporidium* spp. como causa de diarreia em bezerros. *Pesq. Vet. Bras.* 28(10):452-456.
- Feitosa L.L.F., Shimamura G.M., Roberto T., Meireles M.V., Nunes C.M., Ciarlini P.C. & Borges A.S. 2004. Prevalência de criptosporidiose em bezerros na região de Araçatuba, estado de São Paulo, Brasil. *Ciência Rural* 34(1):189-193.
- Moore D.A. & Zeman D.H. 1991. Cryptosporidiosis in neonatal calves: 277 cases (1986-1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 198(11):1969-1971.
- Muniz Neta E.S., Sampaio D.C., Galvão G.S. & Munhoz A.D. 2010. Comparação das técnicas de Ziehl-Neelsen modificada e contraste de fase na detecção de oocistos do gênero *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) em bovinos assintomáticos. *Revta Bras. Med. Vet.* 32(4):201-204.
- Olson M.E., O'handley R.M., Ralston B.J., McAllister T.A. & Thompson R.C.A. 2004. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends Parasitol.* 20:185-191.
- Pancieria R.J., Thomassen R.W. & Garner F.M. 1971. Cryptosporidial infection in a calf. *Vet. Pathol.* 8:479-484.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.E. 2007. *Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.* 10<sup>th</sup> ed. W.B. Saunders, London. 2065p.
- Rieux A., Chartier C., Pors I., Delafosse A. & Paraud C. 2013. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from high-excreting young dairy calves in dairy cattle herds in Western France. *Vet. Parasitol.* 192(1/3):268-272.
- Sanford S.E. & Josephson G.K.A. 1982. Bovine cryptosporidiosis: clinical and pathological findings in forty-two scouring neonatal calves. *Can. Vet. J.* 23:343-347.
- Santín M., Trout J.M. & Fayer R. 2008. A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet. Parasitol.* 155(1/2):15-23.
- Souza J.C.P. & Lopes C.W.G. 1995. Criptosporidiose em bezerros de rebanhos da bacia leiteira Sul-Fluminense, Estado do Rio de Janeiro. *Revta Bras. Parasitol. Vet.* 4:33-36.
- Wright A.K., Giger R., Arnold T.M. & Janzen E.D. 1995. An episode of diarrhea in calves of a well-managed dairy herd. *Can. Vet. J.* 36:36-38.

#### **4 Conclusões**

As principais causas de diarreia em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul são as parasitoses gastrintestinais e as doenças bacterianas;

Parasitoses por nematódeos gastrintestinais em bezerros com diarreia ocorrem nos bovinos com idade entre três e 12 meses;

*Escherichia coli* é a principal causa bacteriana de diarreia em bezerros de um dia até três meses de idade;

Criptosporidiose é uma importante causa de diarreia em bezerros não só como um agente oportunista, mas também como um agente primário.

## Referências

AMARANTE, A. F. T., Controle de Verminose Ovina, Brasília-DF, **Revista CFMV**, n. 34, p. 19-30, 2005.

ANDRADE, G. I.; COURA, F. M.; SANTOS, E. L. S.; FERREIRA, M. G.; GALINARI, G. C. F.; FACURY FILHO, E. J.; de CARVALHO, A. U.; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B. Identification of virulence factors by multiplex PCR in *Escherichia coli* isolated from calves in Minas Gerais, Brazil. **Trop Anim Health Prod**, v.44, p. 1783–1790, 2012.

ARGENZIO, R. A. Pathophysiology of Neonatal Calf Diarrhea. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.1, n.3, p.461-469, 1985.

ASSIS-BRASIL N. D.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; HINNAH, F. L.; LADEIRA, S. R. L.; SALLIS, E. S. V.; GRECCO, F. B.; SCHILD, A. L. Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do RS. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.423-430, 2013.

ATHANASSIOUS, R.; MARSOLAIS, G.; ASSAF, R.; DEA, S.; DESCOTEAUX, J-P.; DULUDE, S.; MONTPETIT, C. Detection of bovine coronavirus and type A rotavirus in neonatal calf diarrhea and winter dysentery of cattle in Quebec: Evaluation of three diagnostic methods. **CanVet J**, v. 35, p. 163-169, 1994.

BARROW, P. A.; JONES, M. A.; THOMSON, N. *Salmonella*. In: GYLES, CARLTON L.; PRESCOTT, JOHN, F.; SONGER, GLENN and THOEN, CHARLES, O. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 4. ed. Iowa: Wiley-Blackwell. Cap. 14, p. 231-267, 2010.

BARROS, C. S. L. Salmonelose. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A; BORGES, J. R. J. **Doença de ruminantes e equídeos**. 3. Ed., Santa Maria: Pallotti, v.1, p. 416-425, 2007.

BARTELS, C. J. M.; HOLZHAUER, M.; JORRITSMA, R.; SWART, W. A. J. M.; LAM, T. J. G. M. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 93, p. 162–169, 2010.

BENESI, F. J. Síndrome diarreia dos bezerros. **Revta CRMV-ES**, Vitória. v.2, n.3,p.10-13,1999.

BERCHETOLD, J. Intravenous fluid therapy of calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.15, n.3, p. 505-531, 1999.

BERNE, M. E. A.; VIEIRA, L. S. Eimeriose bovina. p.661-666. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A. & BORGES, J. R. J. (Eds), **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria, 2007.

BLANCHARD P. C. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Vet. Clin. Food Anim.* v.28, p. 443-464, 2012.

BOTTEON, R. C. M.; BOTTEON, P. L.; SANTOS JÚNIOR, J. B.; PINNA, M. H.; LÓSS, Z. G. Frequência de diarreia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do médio Paraíba – Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci**, v. 45, n. 2, p. 153-160, 2008.

CARDOSO J. M. S.; SILVEIRA F. L.; ARAÚJO A. J. U. S.; CARVALHO J. C. C. & KANAMURA, H. Y. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em um rebanho bovino leiteiro no município de Caçapava, estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Parasit. Vet**, v.17, Supl.1, p.239-242, 2008.

CHO, Y-II.; KIM, W-II.; LIU, S.; KINYON, J. M.; YOON, K. J. Development of a panel of multiplex real-time polymerase chain reaction assays for simultaneous detection of major agents causing calf diarrhea in feces. **J VET Diagn Invest**, v. 22, p. 509–517, 2010.

CHO, Y-II.; HAN, J-Ik.; WANG, C.; COOPER, V.; SCHWARTZ, K.; ENGELKEN, T.; YOON, K-J. Case–control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. **Veterinary Microbiology**, v. 166, p. 375–385, 2013.

CLARK, M. A. Bovine Coronavirus. **British Veterinary Journal**, v.149, n.1, p.51-70, 1993.

CONSTABLE, P. D.; GOHAR, H. M.; MORIN, D. E.; THURMON J. C. Use of hypertonic saline – dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea. **American Journal of Veterinary Research**, v.57, p.97-104, 1996.

DE GRAFF D. C.; VANOPDENBOSCH E.; ORTEGA-MORA, L. M.; ABBASSI H. & PEETERS, J. E. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1269-1287, 1999.

DUBEY, J. P.; WOUDA, W.; MUSKENS, J. Fatal intestinal coccidiosis in a three-week-old buffalo calf (*Bubalus bubalis*). **J. Parasitol.** v.94, p.1289-1294, 2008.  
FAYET, J. C. Plasma and faecal osmolality, water kinetics and body fluid in neonatal calves with diarrhea. **British Veterinary Journal**, v.127, p.37-44, 1971.

FEITOSA, L. L. F.; SHIMAMURA, G. M.; ROBERTO, T.; MEIRELES, M. V.; NUNES, C. M.; CIARLINI, P. C. & BORGES, A. S. Prevalência de criptosporidiose em bezerros na região de Araçatuba, estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.189-193, 2004.

FOSTER, D. M. & SMITH, G. W. Pathophysiology of diarrhea in calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.25, p.13-36, 2009.

GAMEZ, H. A. J.; RIGOBELLO E. C.; FERNANDES, S. A.; MARIN, J. M.; AVILA, F. A. Diarreia bovina: Estudo da etiologia, virulência e resistência a antimicrobianos de agentes isolados de bezerros da região de Ribeirão Preto-SP, Brasil. **A R S Veterinária**, v.22, n. 1, p.22-30, 2006.

GOOKIN, J. L.; NORDONE, S. K.; ARGENZIO, R. A. Host responses to *Cryptosporidium* infection. **J Vet Intern Med.** v.16, n.1, p.12-21, 2002.

GYLES, C. L.; FAIRBROTHER, J. M. *Escherichia coli*. In: GYLES, CARLTON L.; PRESCOTT, JOHN, F.; SONGER, GLENN and THOEN, CHARLES O. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 4. ed. Iowa: Wiley-Blackwell. Cap. 14, p.267-309, 2010.

HOLLAND, R. E. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. **Clinical Microbiology Review**, v.3, n.4, p.345-375, 1990.

IÇEN, H.; ARSERIM, N. B.; IŞIK, N.; ÖZKAN C.; KAYA, A. Prevalence of Four Enteropathogens with Immunochromatographic Rapid Test in the Feces of Diarrheic Calves in East and Southeast of Turkey, **Pakistan Veterinary Journal**, v.33, n.4, p.496-499, 2013.

IBGE 2011. Produção da Pecuária Municipal, 2011. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Producao\\_da\\_Pecuaria\\_Municipal/2011/ppm2011.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011/ppm2011.pdf) Acesso em agosto 2013.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v.2, p.123–140, 2004.

KIRKPATRICK, C. E. Cryptosporidium infection as cause of calf diarrhea. **Vet Clin North Am: Food Anim Pract**, Philadelphia, v.1, n.3, p.515-528, 1985.

LEWIS, L. D.; PHILIPS, R. W. Volume and kinetics of a slow tritium-hydrogen exchange in neonatal calves. **American Journal of Physiology**, v.223, n.1, p.74-76, 1972.

MAHMOUD, A. H.; ABDELLRAZEQ, G. S.; AKEILA, M. A. and KHADR, A. M. Association of antimicrobial resistance with plasmid and protein profiles in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolated from calves, lambs and fish. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, v.38, p.137-147, 2013.

MEIRELES G. S.; SILVA, M. N. P.; GALVÃO, G. S.; ALMEIDA, C. R. A.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Surto de coccidiose em bezerros búfalos (*Bubalus bubalis*) por *Eimeria bareillyi* GIL et al., 1963 (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) - Relato de casos. **Rev. Bras. Med. Vet**, v.34, n.2, p.116-120, 2012.

MICHELL, A. R. Salt, water and survival: acid test and basic advances in fluid therapy. **Irish Veterinary Journal**, v.47, p.3-8, 1994.

MILLEMANN, Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhoea. **Revue Méd Vét.** v. 160, n. 8-9, p. 404-409, 2009.

MOXLEY, R. A.; SMITH, D.R. Attaching-effacing *Escherichia coli* Infections in Cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.26, p. 29–56, 2010.

MUNIZ NETA E. de S.; SAMPAIO D. C.; GALVÃO G. da S. & MUNHOZ A.D. Comparação das técnicas de Ziehl-Neelsen modificada e contraste de fase na detecção de oocistos do gênero *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) em bovinos assintomáticos\*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.32, n.4, p.201-204, 2010.

NAYLOR, J. M. Oral electrolyte therapy. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.15, n.3, p.487-504, 1999.

OLIVEIRA FILHO, J. P.; SILVA, D. P. G.; PACHECO, M. D.; MASCARINI, L. M.; RIBEIRO, M. G.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F.; STIPP, D. T.; BARROS, B. J. P.;

BORGES, A. S. Diarreia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico. **Pesq. Vet. Bras.** v.27, n.10, p. 419-424, 2007.

PEREIRA, R. N.; ÁVILA, F. A.; FERNANDES, S. A. Estudo do perfil epidemiológico da salmonelose em bezerros e da sensibilidade a antimicrobianos na região de Ribeirão Preto-SP, **Brasil. Ars Veterinaria**, v.20, p.62-66, 2004.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE P. D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.** 10th edition., Philadelphia: Elsevier, p.2156, 2007.

RIEUX, A.; CHARTIER, C.; PORS, I.; DELAFOSSE, A. & PARAUD, C. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from high-excreting young dairy calves in dairy cattle herds in Western France. **Vet. Parasitol**, v.192, n.1-3, p.268-272, 2013.

RUAS, J. L.; BERNE, M. E. A. Parasitose por nematódeos gastrointestinais em bovinos e ovinos, p.584-604. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A. & BORGES, J. R. J. (Eds), **Doenças de Ruminantes e Equídeos.** Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria, 2007.

SAIF, L. J. Coronaviridae. In: MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. **Fenner's veterinary virology.** 4. ed. London: Academic Press. Cap. 24, p. 393- 413, 2011a.

SAIF, L. J. Reoviridae. In: MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. **Fenner's veterinary virology.** 4. ed. London: Academic Press, Cap. 24, p. 275-291, 2011b.

SALVADORI, M. R.; VALADARES, G. F.; LEITE, D. S.; BLANCO, J.; YANO, T. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, p.230-235, 2003.

SILVA, D. G.; ÁVILA, L. G.; SILVA, P. R. L.; SATO, R. A.; FAGLIARI, J. J. Estudo comparativo da infecção experimental de bezerros com *Salmonella Dublin* e *Salmonella Thyphimurium*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, VII. Belo Horizonte. **AnaisCiência Animal Brasileira**, p.464-468, 2009.

SCHUCH, L. F. D. Diarreia em bezerros, p.496-508. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A. & BORGES, J. R. J. (Eds), **Doenças de Ruminantes e Equídeos.** Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria, 2007.

WALLER, P. J. Sustainable nematode parasite control strategies for ruminant livestock by grazing management and biological control. **Animal Feed Science and Technology**, v.126 p.277–289, 2006.

WRAY, C.; DAVIES, R.H. Salmonella infections in cattle. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in Domestic Animals**. 1. ed. London: CABI Publishing, Cap.10, p.169-190, 2000.

UHDE, F. L.; KAUFMANN, T.; SAGER, H.; ALBINI, S.; ZANONI, R.; SCHELLING, E.; MEYLAN, M. Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. **Veterinary Record**, v.163, p.362–366, 2008.