

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação**

**INFLUÊNCIA DO VOLUME DE SUCEDÂNEO INGERIDO
E DO TRATAMENTO COM ANTIBIÓTICO E
ANTI-INFLAMATÓRIO SOBRE O PERFIL BIOQUÍMICO,
ELETROLÍTICO E A ETIOLOGIA DA DIARREIA
EM BEZERROS**

JÚLIA GOMES DE CARVALHO

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2013**

Júlia Gomes de Carvalho

INFLUÊNCIA DO VOLUME DE SUCEDÂNEO INGERIDO E DO TRATAMENTO
COM ANTIBIÓTICO E ANTI-INFLAMATÓRIO SOBRE O PERFIL BIOQUÍMICO,
ELETROLÍTICO E A ETIOLOGIA DA DIARREIA EM BEZERROS

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária
da UFMG como requisito parcial para obtenção
de grau em Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina e Cirurgia
Veterinárias

Orientador: Prof. Dr. Elias Jorge Facury Filho

Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2013

C331i Carvalho, Júlia Gomes de, 1985-
Influência do volume de sucedâneo ingerido e do tratamento com antibiótico e anti-inflamatório sobre o perfil bioquímico, eletrolítico e a etiologia da diarreia em bezerros / Júlia Gomes de Carvalho. – 2013.

91 p. : il.

Orientador: Elias Jorge Facury Filho
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

1. Bezerro – Doenças – Tratamento – Teses. 2. Diarreia em bezerro – Tratamento – Teses. 3. Sucédâneos do leite – Teses. I. Facury Filho, Elias Jorge. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.214 089 693

Dissertação defendida e aprovada em 25 de Janeiro 2013, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Elias Jorge Facury Filho
Presidente



Profª. Adriana de Souza Coutinho



Profª. Sandra Gesteira Coelho

*Dedico este trabalho aos meus pais,
aos meus irmãos, à tia Elza e
ao meu amado noivo*

Se você assim fizer, e, se assim Deus ordenar, você será capaz de suportar as dificuldades, e todo este povo voltará para casa satisfeito.
Êxodo 18:23

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter cuidado de mim com tanto amor e por ter me permitido todas as coisas.

Ao meu pai e mestre, pelos ensinamentos, pelo amor incondicional, pela paciência e por fazer de mim uma pessoa melhor com sua alegria contagiante e disposição inabalável.

À minha mãe, pelo cuidado, carinho e por me entender como ninguém entende.

À tia Elza, pelo zelo e por estar sempre disponível para escutar e aconselhar, sempre com mansidão e paciência.

À minha “rimã” Flávia, por ser minha melhor amiga, pela maravilhosa companhia, pelas caronas nos dias mais difíceis e por me ajudar nos momentos mais difíceis dessa caminhada.

Ao Fernando, meu irmão amado, que sempre soube como me incentivar quando achei que não seria possível.

Ao casal André e Raquel, por alegrarem meus dias com tanta espontaneidade.

Ao Carlos, amor da minha vida, por todo apoio e por tornar todos os dias, independente da situação, especiais.

Aos colegas de experimento, residentes e estagiários, pela ajuda e por tornar os dias mais alegres.

À Ana Paula, Dani e Caxito, por fazer essa jornada muito mais divertida e pela amizade.

Aos funcionários e colegas do laboratório de Patologia Clínica e Vírus, pelo auxílio e aprendizado.

Aos estagiários Letícia e Filipe, por toda ajuda e dedicação.

À Tuma de Clínica de Ruminantes, por me fazer sentir em casa na Escola de Veterinária, pois vocês são uma grande família.

Aos professores Fabíola, Sandra, Marcus, Paulo e Ângela, pelos ensinamentos e disponibilidade nos momentos de dúvidas.

Ao Prof. Lobão, exemplo pessoal e profissional, pelos conselhos de amigo e professor, que admiro e que me espelha pela humildade, competência e sabedoria.

À Capes pela bolsa concedida e à Fapemig pelo apoio financeiro no projeto.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE GRÁFICOS E FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. Introdução	19
2. Objetivos e hipóteses.....	19
3. Revisão de literatura.....	19
3.1. Fisiologia do sistema digestivo dos bezerros	19
3.2. Sucedâneo x Sanidade.....	20
3.3. Patofisiologia da diarreia.....	21
3.4. Agentes etiológicos da diarreia	22
3.4.1. Cryptosporidium.....	22
3.4.2. Eimeria.....	24
3.4.3. Giardia	26
3.4.4. Rotavirus bovino	27
3.4.5. Escherichia coli	29
3.4.6. Salmonella	30
3.5. Bioquímica.....	32
3.5.1. Glicose	32
3.5.2. Lactato sérico	33
3.5.3. Função renal.....	33
3.5.4. Função hepática	34

3.5.5. Albumina	35
4. Material e métodos	36
4.1. Local e período	36
4.2. Instalações e manejo.....	36
4.3. Animais.....	37
4.4. Coleta de material (Experimento I e II)	39
4.5. Exame de fezes (Experimento I e II)	39
4.5.1. Pesquisas dos agentes virais e bacteriológicos	39
4.5.2. Pesquisa dos agentes parasitários	41
4.6. Exame de sangue.....	41
4.7. Análise estatística (Experimento I e II)	42
5. Resultados e discussão	44
5.1. Considerações iniciais	44
5.2. Experimento I - Avaliação da influência do volume de sucedâneo de leite sobre os parâmetros bioquímicos e eletrolíticos de bezerros com diarreia e aspectos etiológicos.....	46
5.2.1. Análises bioquímicas	46
5.3. Avaliação da frequência dos enteropatógenos e suas associações em bezerros ingerindo diferentes volumes de sucedâneo (4 litros x 6 litros)	54
6. Conclusões	60
7. Considerações finais.....	61
8. Experimento II - Avaliação da influência do tratamento das diarreias em bezerros com anti-inflamatório e antibiótico sobre os parâmetros eletrolíticos, bioquímicos e etiológicos.....	62
8.1. Análises bioquímicas	62
8.2. Avaliação da frequência dos enteropatógenos e suas associações em bezerros nos grupos 2 (sem tratamento com medicamento) x 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório).....	69
9. Conclusões	73

10. Considerações finais.....	74
12. Referências bibliográficas	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Prevalência de <i>Cryptosporidium</i> spp em fezes de bezerros no Brasil.....	24
Tabela 2: Concentração de garantia do sucedâneo de leite (Lacthor, Tortuga)	38
Tabela 3: Formulação do soro oral.....	39
Tabela 4: Primer usados na PCR multiplex para identificação dos genes de virulência de <i>E. coli</i> e tamanho do produto amplificado, em pares de bases, para cada gene	40
Tabela 5: Valores de referência para concentração sérica de sódio, potássio, cloro, cálcio, magnésio e fósforo	42
Tabela 6: Valores de referência para concentração sérica de AST, ALT, LDH, GGT, fosfatase alcalina, bilirrubina total, uréia, creatinina, albumina, proteína total, lactato e glicose.	42
Tabela 7: Média das concentrações de proteínas totais (g/dL) dos bezerros aos cinco dias de vida dos grupos 1 (4litros), 2 (6 litros) e 3 (6 litros com antimicrobiano e anti-inflamatório) ...	44
Tabela 8: Média dos pesos ao nascimento dos bezerros dos grupos 1 (4litros), 2 (6 litros) e 3 (6 litros com antimicrobiano e anti-inflamatório)	45
Tabela 9: Média e moda da idade de início da diarreia (dias).....	45
Tabela 10: Consumo médio de sucedâneo (litros) antes e durante a diarreia (1-7 dias) em bezerros neonatos por grupo: grupo 1 (oferecido 4 litros) x grupo 2 (oferecido 6 litros)	46
Tabela 11: Consumo médio de sucedâneo (Litros) antes e durante a diarreia (1-7 dias) em bezerros neonatos por grupo: grupo 2 (oferecido 6 litros) x grupo 3 (oferecido 6 litros)	46
Tabela 12: Comportamento dos eletrólitos (Na ⁺ , Cl ⁻ , K ⁺) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).....	48
Tabela 13: Comportamento dos eletrólitos (cálcio, fósforo e magnésio) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).....	48
Tabela 14: Comportamento do lactato em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).	48
Tabela 15: Comportamento das enzimas hepáticas (AST, ALT, LDH, GGT, fosfatase alcalina e bilirrubina total) durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).	51

Tabela 16: Comportamento da albumina e proteína total (PT) durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L)	51
Tabela 17: Comportamento da albumina e proteína total (PT) durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L)	53
Tabela 18: Comportamento da glicose durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).....	54
Tabela 19: Frequência (%) de animais e amostras positivas por enteropatógeno no grupo 1 (4 litros de sucedâneo) e 2 (6 litros de sucedâneo).....	55
Tabela 21: Comportamento dos eletrólitos (Ca ⁺ , P ⁻ e Mg ⁺) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)	64
Tabela 22: Comportamento das enzimas hepáticas (AST, ALT, GGT, fosfatase alcalina e bilirrubina total) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)	66
Tabela 23: Comportamento da uréia e creatinina em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)	67
Tabela 24: Comportamento da uréia e creatinina em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)	67
Tabela 25: Comportamento do lactato em bezerros durante os dias 0 (basal), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório).....	68
Tabela 26: Comportamento da glicose em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório).....	69
Tabela 27: Frequência (%) de animais e amostras positivas por enteropatógeno no grupo 2 (sem tratamento) e 3 (com tratamento)	70

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Frequência (%) de amostras positivas no período da diarreia (1, 3, 5 e 7) para cada agente etiológico no grupo 1 (4 l) e 2(6 l).....	56
Gráfico 2 - Frequência das associações das infecções entéricas do grupo 1 (4L) e 2 (6L)	57
Gráfico 3 - Frequência (%) de amostras positivas no período da diarreia (1, 3, 5 e 7) para cada agente etiológico no grupo 2 (sem tratamento) e 3 (com tratamento).....	71
Gráfico 4 - Frequência das associações das infecções entéricas do grupo 2 (sem tratamento) e 3 (com tratamento com antibiótico e AINEs)	72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Distribuição dos animais nos grupos 1, 2 e 3 em seus respectivos tratamentos..... 38

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Imagem das instalações do experimento..... 37

LISTA DE ABREVIATURAS

A/E - *attaching and effacing*

Ach - acetilcolina

AINE- anti-inflamatório não esteroide

ALP - fosfatase alcalina

ALT - alanina aminotransferase

AST - aspartato aminotransferase

BUN - nitrogênio ureico do sangue

DAEC - *Escherichia coli* difusamente aderente

EAEC – *Escherichia coli* enteroagregativa

EHEC - *Escherichia coli* enterohemorrágica

EIEC – *Escherichia coli* enteroinvasiva

EPEC - *Escherichia. coli* enteropatogênica

GGT - gama-glutamil transferase

IDH - L-íditol desidrogenase

LDH - lactato desidrogenase

LEE - *locus of enterocyte effacemente*

LT - termo-lábil

OCT - ornitina carbamilltransferase

PCR - reação em cadeia da polimerase

PGE2 - prostaglandina E2

PGI2 - prostaciclina

SDS-PAGE - técnica padrão de eletroforese em gel de poliacrilamida

ST - termo-estável

STEC/EHEC - *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga/*Escherichia coli* enterohemorrágica

VIP - polipeptídeo intestinal vasoativo

RESUMO

O presente trabalho foi dividido em dois experimentos. O experimento I teve como objetivo avaliar o perfil bioquímico de bezerros neonatos ingerindo diferentes volumes de sucedâneo durante a diarreia e descrever o comportamento, através de um estudo longitudinal, os principais enteropatógenos em amostras fecais de bezerros na diarreia neonatal. O grupo 1 foi oferecido 4 litros de sucedâneo e o grupo 2, 6 litros, esse apresentou tendência de maior consumo durante a diarreia em relação ao grupo 1. O grupo 2 apresentou níveis mais elevados ($p < 0,05$) nas concentrações sanguíneas de sódio e potássio durante a diarreia em relação ao grupo 1 e menores teores de uréia, creatinina e albumina. O cálcio, GGT, ALT e ALP diminuíram durante a diarreia em ambos os grupos. No grupo 1 e 2 a glicemia diminuiu na diarreia e foi influenciada pelo volume de leite ingerido. No comportamento dos enteropatógenos, a frequência dos agentes foi igual entre os grupos e o *Cryptosporidium* foi o mais frequente. No experimento II, foram realizadas as mesmas avaliações, porém comparando bezerros diarreicos sem tratamento (G2) com bezerros tratados com antibiótico e anti-inflamatório (G3), para ambos os grupos foi oferecido 6 litros de sucedâneo. Foi observado aumento do ALP, AST e do fósforo no grupo 3 em relação ao grupo 2 e menor glicemia do grupo 3 em relação ao grupo 2 após receber o anti-inflamatório. Em relação aos enteropatógenos, a frequência da *Salmonella* foi maior ($p < 0,05$) no grupo 2 e em ambos os grupos, o *Cryptosporidium* foi o agente mais frequente.

Palavras-chave: diarreia, enteropatógeno, perfil bioquímico, sucedâneo

ABSTRACT

This study was divided into two experiments. The first experiment evaluated the biochemical profile of newborn calves feeding different volumes of milk replacer during diarrhea and describes the major pathogens in fecal samples from diarrhea in newborn calves through a longitudinal study. Group 1 was offered 4 liters of milk replacer and group 2, 6 liters, this tended to have higher consumption during diarrhea compared to group 1. Group 2 had higher levels ($p < 0.05$) of blood concentrations of sodium and potassium during diarrhea compared to group 1 and lower levels of urea, creatinine and albumin. Calcium, GGT, ALT, and ALP decreased during diarrhea in both groups. In group 1 and 2 blood glucose decreased in diarrhea and was influenced by the volume of milk ingested. The frequency of agents was similar between groups and *Cryptosporidium* was the most frequent. In experiment II, was conducted the same evaluation, but comparing untreated diarrheal calves (G2) and calves treated with antibiotics and anti-inflammatory (G3). Both group was offered 6 liters of milk replacer. Observed increase in the ALP, AST and phosphorus in group 3 compared to group 2 and lower blood glucose in group 3 compared to group 2 after receiving anti-inflammatory. Regarding enteropathogens, the frequency of *Salmonella* was significantly higher ($p < 0.05$) in group 2 and in both groups, *Cryptosporidium* was the most frequent.

Key words: diarrhea, enteropathogen, biochemical profile, milk replacer

1. Introdução

A criação de bezerros para reposição do rebanho é uma das mais importantes áreas na pecuária leiteira. Além de fornecer animais para reposição do rebanho, é uma forma de obter receita adicional a partir da comercialização de novilhas excedentes. Do nascimento ao desaleitamento, a criação de bezerros exige boas práticas de manejo e muita atenção aos menores detalhes, uma vez que a maior taxa de mortalidade de bezerros se encontra neste período. A saúde e o crescimento dos bezerros são influenciados por fatores que interferem antes, durante e no período imediatamente após o parto (Coelho et al., 2009).

Recentemente, novos conceitos em relação à dieta líquida dos bezerros têm surgido baseados principalmente nas exigências dos animais. Segundo Silper (2012), a variação do volume de leite interfere na taxa de ganho de peso, no custo por quilograma de peso ganho até o desaleitamento e no desempenho.

A diarreia neonatal é uma das principais enfermidades dos bezerros, causando grandes perdas econômicas, levando ao aumento da mortalidade, custos com tratamentos e baixa conversão alimentar (Langoni et al., 2004).

Vários fatores de risco estão associados à incidência de diarreia e a interação entre estes, interferem na relação dos agentes envolvidos na doença. No Brasil, grande parte dos dados sobre os enteropatógenos em bezerros neonatos, geralmente abordam número restrito de agentes e estão mais voltados para a avaliação da prevalência.

O estudo longitudinal dos enteropatógenos acompanhados dos efeitos patofisiológicos envolvidos no animal poderá dar mais subsídios para melhor entendimento e manejo desta afecção tão frequente e importante na criação de bezerros.

2. Objetivos e hipóteses

O desenvolvimento do estudo baseou-se nas seguintes hipóteses:

1. Bezerros alimentados com maiores quantidades de sucedâneo apresentam menores distúrbios do equilíbrio eletrolítico e bioquímico.
2. O tratamento de bezerros diarreicos com anti-inflamatório não esteroide e antibiótico proporciona controle de infecção bacteriana e menores alterações bioquímicas devido à enfermidade.

Este trabalho foi dividido em dois experimentos com objetivos distintos:

Experimento I: Avaliar o perfil eletrolítico, hepático e renal de bezerros ingerindo diferentes volumes de sucedâneo no período da diarreia neonatal e determinar, através de um estudo longitudinal, o comportamento dos principais enteropatógenos em amostras fecais de bezerros na diarreia neonatal.

Experimento II: Avaliar o perfil eletrolítico, hepático e renal de bezerros tratados com anti-inflamatório não esteroide e antibióticos e bezerros sem tratamento no período da diarreia neonatal e determinar, através de um estudo longitudinal, o comportamento dos principais enteropatógenos em amostras fecais de bezerros na diarreia neonatal.

3. Revisão de literatura

3.1. Fisiologia do sistema digestivo dos bezerros

Bezerros jovens apresentam características físicas e funcionais tanto de monogástrico quanto de ruminante. Ao nascerem, os atributos físicos que distinguem um ruminante de um animal monogástrico, ou seja, o retículo, rúmen, omaso e abomaso, estão presentes. No entanto, o retículo-rúmen e omaso se apresentam em estado

rudimentar (Church, 1988). O fator que mais influencia o desenvolvimento dos pré-estômagos em bezerros é a dieta (Preston, 1963). Assim que o bezerro começa a ingerir alimento seco, os pré-estômagos aumentam em volume, peso, musculatura e capacidade absorptiva com o crescimento das papilas (Huber, 1969). As proporções ao nascimento são 37% para rúmen-retículo, 13% para omaso e 49% para abomaso, sendo este, o maior compartimento (Davis e Drackley, 1998; Hofmann, 1993).

O desenvolvimento do sistema digestivo do bezerro ocorre basicamente em três fases: fase pré-ruminante (nascimento até três semanas de idade), quando o bezerro consome pequenas quantidades de alimento seco e depende quase exclusivamente de leite ou substituto do leite; fase de transição (três semanas de idade até a desmama), quando ocorre fermentação da dieta sólida, levando a diferenciação do epitélio do rúmen e fase ruminante (após o desmame) (Drackley, 2008). O consumo de alimentos sólidos estimula a proliferação da microbiota do rúmen e produção dos ácidos graxos voláteis (Church, 1988). Nocek et al., (1984) mostraram que bezerros jovens alimentados com concentrado apresentavam desenvolvimento de rúmen maior do que os alimentados com forragem. Isso pode ser explicado, uma vez que o butirato e propionato levam ao aumento da atividade mitótica do epitélio do rúmen, provocando o aumento do tamanho das papilas e este processo contribui para o bezerro entrar na fase de ruminante (Bergman, 1990; Mentschel et al., 2001).

Quando o bezerro é aleitado no balde ou na mamadeira, o leite passa diretamente do esôfago para o abomaso. Isso acontece, pois durante o processo de sucção do leite, os impulsos provenientes do cérebro enviam mensagens para a goteira esofágica, provocando o fechamento das pregas com a formação do tubo que liga o cárdia ao abomaso. Em bezerros normais, cerca de

3% do leite consumido pode cair no rúmen. Ao chegar ao abomaso, pela ação da enzima renina, ocorre coagulação do leite que retarda passagem deste até o intestino para que haja tempo suficiente para a digestão. Os sólidos do leite são digeridos pelas enzimas do animal no abomaso e no intestino delgado. As enzimas digestivas presentes no nascimento e durante a fase pré-ruminante garantem digestão altamente eficiente das proteínas do leite, da lactose e dos triacilgliceróis dietéticos, mas é pouco eficiente na digestão de proteínas não lácteas ou polissacarídeos tais como amido (Drackley, 2008). Os ácidos graxos de cadeia média possuem potente atividade antimicrobiana e junto com as condições ácidas do estômago, podem prevenir a entrada de microrganismos patogênicos no intestino delgado (Kabara, 1978).

3.2. Sucedâneo x Sanidade

Apesar de estudos demonstrarem maiores taxas de crescimentos obtidos com maior volume de leite, grande parte dos produtores ainda continua alimentando os bezerros com quantidades restritas por acreditarem que a ingestão de leite aumentaria a incidência de diarreia e levaria a diminuição de ingestão de alimentos sólidos, com menores ganhos de peso após o desmame (Silper, 2012).

Trabalhos mais antigos sobre a alimentação, com maiores quantidades de leite para bezerros, mostraram um aumento de casos de diarreia, mas a razão para este aumento não foi bem estabelecida (Khouri e Pickering, 1968; Grieve et al, 1972; Stiles et al, 1974). Resultados semelhantes foram encontrados com bezerros, que foram alimentados à vontade em alimentador automático de leite em grupos de 40 a 50 bezerros (Tomkins, 1991). Huber et al. (1984) relataram que não houve diferença na incidência de diarreia em bezerros recebendo 4,1 Kg de leite por dia em relação aos bezerros que receberam 6,7 Kg

por dia. Jasper e Weary (2002) não observaram aumento na incidência de diarreia entre os bezerros que receberam leite a vontade e bezerros que receberam quantidades de leite padrão.

De acordo com Drackley (2001) existem evidências de que bezerros com dietas para crescimento acelerado sejam mais resistentes à diarreia e doenças respiratórias e aqueles que chegam a adoecer recuperam-se mais rapidamente com menor impacto sobre a taxa de crescimento durante a doença. Logo, a ocorrência de diarreia neonatal está mais relacionada com a carga de microrganismos patogênicos no ambiente, com estado imunológico do bezerro e manejo, do que com o volume de leite, exceto quando o sucedâneo de leite seja de baixa qualidade ou o leite contaminado (Roy, 1980; Bagley, 2001).

3.3. Patofisiologia da diarreia

A diarreia em bezerro é uma doença multifatorial e, apesar de décadas de pesquisas sobre o assunto, ainda é a causa mais frequente de morte em bezerros neonatos (Lorenz, 2006). A síndrome diarreica neonatal ocorre como resultado da interação entre o bezerro, fatores de manejo e ambientais, incluindo manejo de colostro, sanitário, instalações, estratégia de agrupamento, ventilação, estresse, nutrição e exposição a um ou mais agentes infecciosos (Hall et al, 1992). Os agentes infecciosos mais frequentes envolvidos na diarreia são patótipos de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Coronavirus*, *Rotavirus*, *Cryptosporidium* spp, *Giardia* e *Eimeria*, sendo comum as infecções mistas por estes agentes (Tzipori et al, 1980).

A diarreia contribui de 50% a 75% das mortes de bezerros com até três semanas de idade, com morbidade de 90% a 100% neste período, resultando em consideráveis perdas econômicas (Freitas, 2009; Langoni et al, 2004). Apesar dos riscos da doença

ter sido identificado, a perda de bezerro, devido à diarreia, não diminuiu. Estudos nos E.U.A. mostraram que patógenos entéricos são associados com a morte de até 25% de bezerros nos países anualmente (Hunt, 1985). Pesquisas em fazendas mostraram que a incidência de diarreia em bezerros jovens está entre 15,4% e 28,4% quando os dados foram baseados em questionários de fazendas (Katikaridis, 2000; Biewer, 2001) e de 47,8% em bezerros de até três semanas examinados diariamente por veterinários (Girrus, 2004).

A síndrome diarreica pode ser causada por fatores secretórios, osmóticos, exudativos ou por alteração da motilidade, atuando juntos ou separadamente. A diarreia secretória pode ser causada por enterotoxinas bacterianas, ácidos biliares, hormônio ou mediadores inflamatórios que promovem uma alteração no transporte de íons, movendo água e eletrólitos do epitélio intestinal para o lúmen em quantidade superior a capacidade de absorção do cólon. A diarreia osmótica é causada pela permanência de solutos ingeridos e não absorvidos pelo epitélio intestinal, extraindo água e íons para o lúmen. A síndrome exudativa refere-se ao extravasamento de água, eletrólitos, muco e proteínas a partir de vasos sanguíneos e linfáticos para o interior do lúmen intestinal, secundários a lesões intestinais. Já a diminuição da motilidade favorece o crescimento bacteriano no intestino, aumentando a probabilidade de aparecimento da síndrome diarreica (Sellin, 2001).

Independente da causa inicial, as diarreias neonatais em bezerros possuem uma sintomatologia clínica similar. Os sinais mais comumente encontrados são desidratação, redução do volume plasmático e da perfusão tecidual, degradação da função renal com evolução para choque hipovolêmico, balanço negativo de sódio, potássio, cloreto e bicarbonato, hiponatremia, azotemia,

inapetência, perda de peso corpóreo, apatia, balanço energético negativo com ou sem hipoglicemia e, na maioria das vezes, acidose metabólica e hipercalemia (Michell, 1983; Philips, 1985; Groutides e Michell, 1990; Michell, 1994; Berchtold, 1999; Naylor, 1999; Rebhun, 2000; Radostits et al., 2007).

Segundo Ferreira et al. (2009), o uso de anti-inflamatório não esteroide em bezerros com diarreia, leva a diminuição dos dias de diarreia, aumento do consumo e aumento do ganho de peso. Todd et al. (2010) avaliou a terapia de uma única aplicação de meloxicam 0,5mg/kg/PV em relação a um placebo em bezerros com diarreia naturalmente adquirida em torno de 10 dias de idade. Os bezerros tratados com o anti-inflamatório foram mais propensos a consumir a sua provisão de leite diário, consumir a ração mais cedo e em maior taxa, mais água e ganharam peso em maior velocidade. Não houve diferença no peso ao desmame, mas os bezerros tratados com meloxicam tenderam a desmamar mais cedo. Estes resultados demonstraram que o uso de uma única injeção de anti-inflamatório, no início da diarreia, melhorou o apetite e o desempenho.

Geralmente, na fase do quadro diarréico, ocorre uso abusivo e indiscriminado de antibióticos por parte dos criadores e veterinários, por pensarem se tratar de diarreia apenas bacteriana, o que ocasiona grande prejuízo econômico e, também, desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos utilizados (Feitosa et al., 2008).

Langre (2010) testou em 51 amostras fecais a sensibilidade aos antimicrobianos para o agente bacteriano *E. coli* presentes em amostras fecais, foram encontrados: paramarbofloxacina (96,07%), enrofloxacina (88,23%), cefotaxima (84,31%), amoxicilina (78,43%) e espectinomicina (33,33%) e elevada resistência à penicilina, neomicina,

eritromicina, estreptomicina e cloranfenicol. Segundo Fitton (1992), a absorção oral de fluoroquinolonas é elevada e rápida em animais monogástricos (exceto cavalos), pré-rumiantes e a biodisponibilidade destes medicamentos por via oral, pode variar entre 50% e 90%, dependendo da espécie e da molécula considerada.

3.4. Agentes etiológicos da diarreia

3.4.1. *Cryptosporidium*

A criptosporidiose é uma doença parasitária causada por um protozoário oportunista do gênero *Cryptosporidium*. Este protozoário foi descrito pela primeira vez em 1907 pelo parasitologista Ernest Edward Tyzzer, sendo encontrado em glândulas gástricas de camundongo de laboratório, onde foi observado formação de esporos (oocistos). Tem sido reconhecido como principal causador de diarreia em todo mundo e atinge tanto mamíferos quanto pássaros, répteis e peixes (Tzipori et al., 1980). Em bovinos, existem duas espécies mais comuns que podem ser distinguidas: o *Cryptosporidium parvum*, que afeta a parte distal do intestino delgado e o *Cryptosporidium muris*, que se localiza no abomaso. O *C. parvum* tende a infectar bezerros mais jovens (entre 8 e 21 dias de idade), sendo estes considerados os indivíduos de maiores riscos de contaminação dentro de uma propriedade, enquanto o *C. muris* afeta bezerros mais velhos, já desmamados (Feitosa et al., 2004; Fayer, 2007).

O ciclo de vida do *Cryptosporidium* é semelhante ao de outros coccídeos com algumas alterações. Os oocistos esporulados presentes no intestino delgado eclodem, liberando quatro esporozoítos que atingem as células epiteliais do lúmen (Moore et al., 1988; Prestwood, 1990). Estes esporozoítos aderem às células epiteliais, são englobados por

microvilosidades, formando um vacúolo parasitóforo. Após a fixação na célula, ocorrem modificações estruturais no ápice da célula hospedeira e no parasita com formação de uma organela de nutrição. Esta localização é chamada de intracelular extracitoplasmática (Polhenz et al., 1978). Os esporozoítos diferenciam-se em trofozoítos e inicia-se a multiplicação assexuada ou merogonia resultante da divisão nuclear. São formados dois tipos de merontes (tipo I e tipo II): o tipo I apresenta seis a oito merozoítos e o tipo II, quatro merozoítos. Os merozoítos tipo I podem originar novos merozoítos iguais ou do tipo II, os merozoítos tipo II parecem dar origem à fase sexual do ciclo ou gametogonia com diferenciação em microgametas (masculino) e macrogametas (femininos). Após a fertilização ocorre formação do zigoto, dando origem a oocistos autoinfectantes de parede fina que se rompem no intestino e são capazes de iniciar um novo ciclo no hospedeiro e oocistos de parede espessa (altamente resistentes) que são eliminados no ambiente pelas fezes. A esporulação ocorre “in situ”, desenvolvendo quatro esporozoítos. As dimensões e o formato entre as espécies apresentam pequena variação (Bird, 1980; Tzipori, 1988; Dubey et al., 1990; Fayer et al., 2005).

A infecção pelo *Cryptosporidium* induz grave atrofia das vilosidades. Esta atrofia é causada pela perda de enterócitos, com conseqüente retração da vilosidade para manter uma barreira epitelial. A hiperplasia das criptas ocorre em função da substituição das células epiteliais perdidas, no entanto em infecções mais graves, pode ocorrer rompimento da barreira epitelial. Apesar de ser bem reconhecida a conseqüência do *C. parvum*, o mecanismo da perda celular ainda não é bem esclarecido. Ainda não é compreendido se a perda de células é um efeito do agente ou da resposta do hospedeiro para solucionar a infecção (Tzipori et al., 1982; Heine et al., 1984;

Argenzio et al., 1990; Gookin et al., 1995., Moore et al., 1995).

A infecção de células epiteliais intestinais com *Cryptosporidium parvum* induz a célula epitelial a secretar prostaglandina (PGE2) e leva à ativação de macrófagos na lâmina própria. Isto induz a secreção das prostaglandinas (PGE2) e PGI2 a partir de células do mesênquima. O PGI2 estimula o sistema nervoso entérico a secretar acetilcolina (Ach) e polipeptídeo intestinal vasoativo (VIP). A secreção de acetilcolina, VIP e PGE2 leva ao aumento na concentração de cálcio intracelular e cAMP, o qual ativa a secreção de ânions (Cl⁻ e HCO₃⁻) e inibe absorção de sódio e cloro (Argenzio et al., 1996; Gookin et al., 2002; Jones e Blikslages, 2002). O período pré-patente da criptosporidiose são de três a seis dias e o patente de quatro a treze dias (Fayer et al., 1998). Os bezerros neonatos podem se infectar logo após o nascimento, com aproximadamente três dias, e eliminar oocistos em maior quantidade na segunda semana de vida. Embora a prevalência seja maior em bezerros lactentes, oocistos de *Cryptosporidium* podem ser encontrados em bovinos adultos (Feitosa et al., 2008).

O principal mecanismo de transmissão do *Cryptosporidium* spp é através das fezes no ambiente que são transportadas pela água, principalmente da chuva. A infecção se dá pela ingestão dos oocistos em alimento, água, por contato íntimo entre animais ou superfícies contaminadas (Fayer et al., 2000).

Cryptosporidium spp apresenta distribuição cosmopolita e sua presença já foi registrada em mais de 90 países, acometendo várias espécies de animais (Green et al., 2003). A distribuição deste agente, no Brasil, pode ser observada na tabela 1.

Tabela 1: Prevalência de *Cryptosporidium* spp em fezes de bezerros no Brasil

Autor	Região	Classificação das fezes - diarreicas/normais	Idade (dias)	Prevalência %
Garcia e Lima ,1993	MG	diarreicas e normais	0-60	27,87
Garcia e Lima ,1994	MG	diarreicas e normais	2-60	19,5
Batista, 2005	MG	Diarréicas	7-14	68
Ferreira, 2009	MG	diarreicas e normais	0-60	9,2
Ortolani e Soares, 2003	SP	diarreicas e normais	0-60	21,5
Feitosa et al, 2008	SP	diarreicas e normais	1-60	78,5
Feitosa et al, 2004	SP	diarreicas e normais	0-30	12,4
Langoni et al, 2004	SP	Diarréicas	0-30	21,3
Ederli et al, 2004	RJ	diarreicas e normais	4-365	43,6
Almeida et al, 2008	RJ	diarréicas e normais	0-365	61

Fonte: Adaptado de diversos autores

No México, Maldonado-Camargo et al.(1998) encontraram prevalência de 20% de oocistos em fezes de bezerros com até 30 dias, sendo o pico de eliminação em média com 15 dias. Na França, através do teste ELISA, foi observada prevalência de *Cryptosporidium* de 17,9% de amostras de bezerros entre quatro e 12 dias, mas apenas 5,3% apresentavam diarreia (Lefay et al., 2000).

Em outro estudo no México, Contreras e Palacios (2008) estudaram a prevalência de quatro agentes (*C. parvum*, *E. coli* k99, *Rotavirus* e *Coronavirus*) em amostras de

fezes diarréicas de 170 bezerros. O *C. parvum* foi encontrado em 58,2% das amostras, estando associado ao *Rotavirus* em 12,6%, ao *Rotavirus* e *E. coli* em 14,3% e ao *Rotavirus*, *Coronavirus* e *E. coli* em 39,7% das amostras.

3.4.2. *Eimeria*

O gênero *Eimeria* é um dos mais importantes protozoários que afetam o trato gastrointestinal dos bovinos, produzindo enterite contagiosa, que proporciona o aparecimento de diarreia. A coccidiose é cosmopolita e atinge ruminantes submetidos aos mais diferentes sistemas de

criação. No Brasil, a eimeriose é endêmica, afetando gado de corte e de leite (Lima, 1980; Facury Filho, 1992).

A taxa de infecção por *Eimeria* é alta, embora a doença em sua forma clínica seja baixa (10 a 15%). Eventualmente pode também ocorrer na forma de surtos no rebanho, atingindo até 80% dos animais (Nilo, 1970). A eimeriose leva a diminuição de consumo, perdas no ganho de peso e aumento da mortalidade, gerando perdas econômicas para o produtor (Dauguschies e Najdrowski, 2005).

Fatores estressantes como mudança de temperatura, deficiência nutricional, desmama precoce e doenças infecciosas podem levar ao aparecimento da eimeriose clínica. Uma vez que bovinos adultos são portadores potenciais de infecção para os bezerros neonatos, estes podem se infectar com os oocistos eliminados pela mãe. Os animais assintomáticos no rebanho representam importante papel na manutenção e disseminação da eimeriose (Figueiredo, 1982; Cerqueira, 1988; Rodriguez-Vivas et al., 1996; Rebhun, 2000; Noronha Júnior e Buzetti, 2002).

Várias espécies de *Eimeria* podem infectar os bovinos, sendo as mais frequentes como causadoras de diarreia a *E. bovis* e a *E. zuernii* e mais raramente a *E. ellipsoidalis* e *E. alabamensis*. A identificação das espécies de *Eimeria* parasitas de ruminantes é feita baseando-se no hospedeiro e nas suas características morfológicas e biológicas. (Lima, 1980; Facury Filho, 1992).

A infecção dos ruminantes ocorre pela ingestão de oocistos esporulados através da água e alimentos contaminados com fezes. Os oocistos são estruturas resistentes e em condições favoráveis, podem permanecer infectantes no meio ambiente por vários meses. Estes são resistentes a grande parte dos desinfetantes comerciais, mas são destruídos pela dessecação, luz solar direta e calor. Após a infecção do animal, os

oocistos liberam formas infectantes, os esporozoítos, que penetram nas células do trato gastrointestinal. Nestas células se multiplicam e, conseqüentemente, causam lesões que interferem nos processos digestivos. Depois da multiplicação assexuada por merogonia ocorre o processo sexuado resultando na formação do zigoto que é envolvido por uma membrana cística resistente e se transforma no oocisto. A célula parasitada se rompe e o oocisto é eliminado para o meio externo junto com as fezes. No meio ambiente o oocisto se divide por esporogonia, origina quatro esporozoítos, e se torna infectante (Rebhun, 2000; Lima, 2004).

A ocorrência de coccidiose é mais frequente no período chuvoso e em locais mais úmidos com higiene precária. Este ambiente favorece a sobrevivência dos oocistos infectantes, permitindo maior contaminação ambiental, dos alimentos e da água com as fezes dos animais (Dauguschies e Najdrowski, 2005). A primo-infecção dos bezerros por *Eimeria* spp. depende do manejo e das condições do ambiente. Observa-se que a infecção ocorre nas primeiras semanas e a eliminação dos oocistos ocorre a partir da terceira semana (Levine, 1973). Facury Filho (1992) observou aumento do número de oocistos eliminados nas fezes dos bezerros em torno de quatro meses de idade, quando ocorre diminuição das contagens no OOPG e posterior estabilização. Em situações de estabilidade enzoótica, as infecções de animais jovens por várias espécies de *Eimeria* são responsáveis pela instalação da imunidade, que é específica para cada espécie (Levine, 1973).

Em Sete Lagoas (MG), Leite (1982) determinou a prevalência de oocistos de 120 animais de até 1 ano de vida de 30 propriedades. Foi encontrado oocistos de *Eimeria* em todas as propriedades e em 92,5% dos animais.

Em um experimento realizado em duas propriedades em Igarapé (MG) e Curvelo (MG) a prevalência de *Eimeria* e identificação da espécie. Na propriedade de Igarapé foram examinadas 360 amostras de fezes de 66 bezerros acompanhados do nascimento a desmama. A prevalência foi de 89,44% nas amostras de fezes para oocistos de *Eimeria* e foram encontradas oito espécies; *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. cylindrica*, *E. bukidnonensis*, *E. subspherica* e *E. canadensis*. Na segunda propriedade, com características mais intensivas, foram coletadas fezes de 24 animais a cada 14 dias, do nascimento a desmama, totalizando 230 amostras. A prevalência foi de 19% e foram identificadas sete espécies; *E. ellipsoidalis*, *E. bovis*, *E. auburnensis*, *E. zuernii*, *E. subspherica*, *E. cylindrica* e uma espécie denominada *Eimeria sp.* (Cerqueira, 1988).

No Estado de Santa Catarina, Pasquali et al. (2008) pesquisaram 40 amostras de fezes de bovinos de diferentes municípios. Foram encontrados 32,5% de prevalência de oocistos nas fezes.

No sudeste da Bahia, Almeida et al. (2001) pesquisaram a presença de espécies do gênero *Eimeria* em bovinos naturalmente infectados de 10 fazendas leiteiras com sistema extensivo ou semiextensivo. Foram coletadas 118 amostras de fezes, sendo 33,33% positivas com 10 diferentes espécies; *E. bovis* (24,79%), *E. canadensis* (8,55%), *E. zuernii* (6,83%), *E. ellipsoidalis* (5,99%), *E. cylindrica* (3,42%), *E. auburnensis* (3,42%), *E. brasiliensis* (2,56%), *E. bukidnonensis* (1,71%), *E. alabamensis* (0,85%) e *E. subspherica* (0,85%).

Em um estudo transversal no Azerbaijão, foram coletadas 500 amostras de fezes de bezerros com diarreia em quatro temporadas (125 amostras para cada estação) em bezerros de até dois meses de idade para pesquisa de oocistos de *Eimeria*.

Foi encontrado prevalência de 14,4% na primavera, 28% no verão, 16% no outono e 13,6% no inverno, com pico de eliminação de oocistos com oito semanas de idade (Davoudi, 2011).

3.4.3. Giardia

A *Giardia duodenalis* (*Giardia lamblia* ou *Giardia intestinalis*) é outro protozoário potencialmente importante em bovinos. Muitos estudos têm identificado a *Giardia duodenalis* em rebanhos bovinos, com prevalência de até 89% em bezerros. Bezerros com quatro dias de idade já podem estar infectados com o parasito, no entanto sua maior prevalência é em animais mais velhos. A *Giardia duodenalis* é frequentemente encontrada tanto em animais assintomáticos (23-34%) quanto em animais diarreicos (7-29%). Devido à alta prevalência, a *Giardia* pode ser um importante agente zoonótico, pois de fato, os agentes isolados de rebanhos domésticos são morfologicamente, fenoticamente e genotipicamente idêntico aos isolados humanos (Caccio et al, 2005).

A *Giardia duodenalis*, é um protozoário parasita que habita o intestino delgado e apresenta alta morbidade no mundo todo. A *Giardia* foi vista em microscópio, primeiramente por Antony Van Leeuwenhock em 1681 (Dobel, 1920). Posteriormente, foi descrita por Vilim Lambli em 1859. Foram notificados surtos de giardíase pela água na Europa e Estados Unidos durante em 1960 e 1970 (Craun, 1990; Farthing, 1992). Os sintomas clínicos da giardíase humana são diarreia, desidratação, dor abdominal, náuseas, vômitos e perda de peso (Thomson e Monis, 2004). A infecção por *G. duodenalis* é relatada em uma ampla variedade de hospedeiros como mamíferos, aves, répteis e anfíbios (Thompson et al., 1993). A água é uma importante fonte de propagação da infecção por *Giardia* em humanos, causando preocupação aos serviços

públicos de água dos países desenvolvidos e em desenvolvimento no mundo (Hogue et al., 2002).

Giardia é considerada uma zoonose, uma vez que subgenótipos de *Giardia*, nomeados como A1, A2, A3, A4 e B3, foram encontrados em infecções de seres humanos, cães e bezerros. (Lalle e Pozio, 2005). O bovino pode excretar número elevado de cistos de *Giardia*, tornando-se fonte de contaminação da água e do ambiente (Weniger et al., 1983; Craun, 1990) e pode atuar como reservatório para surtos de giardíase em humanos (Buret et al., 1990).

O ciclo de vida do protozoário *Giardia duodenalis* consiste em duas fases: o trofozoíto e o cisto. O trofozoíto é a fase de multiplicação, que é relativamente frágil, enquanto o cisto é mais resistente e é a fase infecciosa mais comum. O ciclo de vida da *Giardia* não exige nenhum hospedeiro intermediário. A infecção ocorre quando o cisto é ingerido por um hospedeiro e sofre processo de excitação, como resposta à exposição ao pH ácido do abomaso e das enzimas pancreáticas. Um cisto produz dois trofozoítos que se replicam nas criptas do duodeno e na porção inicial do jejuno, reproduzindo assexuadamente por fissão binária. O encistamento ocorre no íleo para alguns dos trofozoítos, possivelmente devido à sua exposição a sais biliares, criando cistos que serão eliminados nas fezes do hospedeiro (Ortega et al., 1997).

A infecção por *Giardia* ocorre em bezerros alojados em grupo, bem como em sistemas individuais (Olson et al., 1997). Há alguns relatos sobre baixas taxas de infecção por *Giardia* e outros como causador importante de diarreia (Deshpande e Shastri, 1981).

Na Holanda, foi encontrada prevalência de *G. duodenalis* de 54,5% em bezerros de quatro a cinco meses (Huetink et al., 2001).

Um estudo longitudinal foi realizado na Austrália Ocidental para determinar a

propagação de *Giardia* em bovinos de leite. A prevalência foi maior em bezerros de quatro a sete semanas de idade e foi detectado em 89% dos animais. O contato entre os bezerros pareceu ser a fonte mais provável de transmissão (Becher et al., 2004).

Em Minas Gerais, Guimarães et al. (2009) pesquisaram cistos de *Giardia* de 10 bezerros alojados em sistema tie-stall. Foram coletadas amostras de fezes diariamente até 60 dias de vida e semanalmente dos 60 aos 100 dias. A incidência de *Giardia* foi de 100% e a eliminação inicial de cistos ocorreu entre o 17º e o 25º dia de vida. A eliminação foi intermitente e presente em três animais até a última amostra coletada (90-100 dias de idade). A duração da eliminação foi em média 29 dias dividida em três períodos, alguns animais eliminaram cistos em um único longo período e outros eliminaram de forma intermitente chegando a oito períodos distintos de eliminação.

3.4.4. Rotavirus bovino

Rotavirus é um gênero da família *Reoviridae*. O *Rotavirus* pode ser classificado em sete sorogrupos (A-G), em sorótipos e de acordo com as proteínas VP4 (tipo P) e VP7 (tipo G) (Estes e Kapikian, 2007). O sorogrupo A é o grupo mais frequente e está associado com diarreia em bezerros (Tzipori, 1985; Holland, 1990; Radostits et al., 2007).

Em 1969, o *Rotavirus* foi isolado pela primeira vez a partir de fezes de bezerros nos E.U.A. (Membus et al., 1969). O vírus foi isolado por diferentes autores, sendo considerado como importante agente causador de diarreia ou associado a outros microorganismos enteropatogênicos (Scherrer et al., 1976). Os prejuízos econômicos causados pelo *Rotavirus* são bastante elevados, variando de 3,1 a 8,7 milhões de dólares por ano (House, 1978).

O *Rotavirus* tem como alvo preferencial os enterócitos maduros. O vírus ataca os enterócitos através de receptores específicos, invadindo a célula por um mecanismo ainda desconhecido, se replica dentro da célula, conduzindo o enterócito à morte. As vilosidades danificadas tornam-se atrofiadas e são repostas por células epiteliais imaturas que migram das criptas e ainda não possuem suas funções de digestão e absorção totalmente desenvolvidas, resultando em acúmulo de líquido no lúmen intestinal, causando diarreia por má digestão e má absorção (Argenzio, 1985; Torres-Medina et al., 1985; Ramig, 2004). O Rotavirus produz uma enterotoxina viral (NSP4), sintetizada no momento da replicação do vírus, que provoca a estimulação de neurotransmissores e ativação de vias secretórias (Ball et al., 1996, Zhang et al., 2000; Saif, 2011)

O tratamento da infecção por *Rotavirus* é baseado somente na reidratação, uma vez que não há medicamentos específicos contra este agente. Uma abordagem seria vacinação da vaca gestante e colostragem eficiente, além de boas condições do ambiente e densidade de animais adequada (Foster e Smith, 2009).

No Brasil, Jerez et al. (1987) obteve 29,0% de amostras positivas para Rotavirus no ensaio imunoenzimático, a partir de 120 amostras de fezes de bezerros diarréicos com até 30 dias de idade. Brito (1994) encontrou 7,77% de amostras positivas de 223 amostras de fezes de bezerros com idade entre 1-120 dias de idade, provenientes de diversas propriedades rurais de 14 municípios do estado de Goiás. Buzinaro et al. (2000) detectaram prevalência de 11,2% e 17,2% de *Rotavirus* das amostras fecais de bezerros com e sem diarreia. Pesquisas conduzidas por Reinhardt et al. (1991), Shah e Jhala (1992) e Ishizaki et al. (1995) sobre a ocorrência do *Rotavirus* em bezerros diarréicos demonstram prevalência de 53,0%, 28,12%, 20,0% e 22,0%, respectivamente.

Em Minas Gerais, no município de Martinho Campos, Coura (2011) fez um estudo longitudinal para avaliar a incidência do *Rotavirus* do grupo A (RV-A), *Coronavirus* bovino (BCoV), *Salmonella* spp e *Escherichia coli* patogênica. Foram coletadas amostras de fezes de 67 bezerros semanalmente até completarem 60 dias, totalizando 850 amostras. A incidência foi de 10,9% do Coronavirus, 16,4% da *Salmonella*, 12,11% da *E. coli* enteropatogênica, de 5,76% do *Rotavirus*, sendo que destas amostras positivas, 69% eram de bezerros diarréicos.

Na Espanha, 218 amostras de fezes de bezerros com idade até 30 dias foram coletadas de 65 propriedades leiteiras. Foi determinada a prevalência de *Rotavirus* e sua associação com outros enteropatógenos (*Coronavirus*, *E. coli* K99, *Cryptosporidium* spp. e *Salmonellaspp.*). A pesquisa do *Rotavirus* foi realizada através de EPGA (gel de poliacrilamida submetido à eletroforese e corado com prata) e dos outros agentes no kit Elisa comercial, com exceção da *Salmonella*, que foi isolada por meios de enriquecimento seletivos. O *Rotavirus* estava presente em 54 amostras, sendo em 20,4% associado com Coronavirus, 85,2% com o *Cryptosporidium* spp, 1,8% com *Salmonella* spp. E 16,7% com *E. coli* K99 (Garcia et al., 2000).

Bartels et al. (2010) pesquisaram cinco enteropatógenos (*Escherichia coli* K99, coronavirus, rotavirus, *Cryptosporidium parvum*, *Clostridium perfringens*) de 424 bezerros com até 22 dias de idade de 108 propriedades leiteiras na Holanda. A prevalência do *Rotavirus* foi de 17,7% e a maior parte dos animais positivos apresentavam diarreia e estavam com oito a quatorze dias de idade. Coura (2011) encontrou associação entre diarreia e a presença de *Rotavirus*, sendo maior a probabilidade de detectar o vírus nas fezes de animais com diarreia.

Langoni et al. (2004) detectaram *Rotavirus* em 21,5% das pelo teste ELISA e em associação com *Cryptosporidium* spp. em 17,7% (Langoni et al., 2004).

3.4.5. *Escherichia coli*

A colibacilose é uma doença causada por cepas de *Escherichia coli* patogênica. Embora essa bactéria seja predominante da mucosa intestinal de mamíferos saudáveis sem causar lesões no hospedeiro, várias cepas ao adquirirem fatores de virulência específicos, tornam-se potencialmente patogênicas. A doença em bovinos jovens constitui como causa mais importante de mortalidade neonatal em bezerros leiteiros e pode se apresentar como uma enfermidade intestinal (colibacilose entérica) com sinais de diarreia, desidratação, acidose e morte ou uma enfermidade septicêmica, caracterizada como uma doença grave e com morte em poucas horas (Rebhun, 2000; Radostits et al., 2007).

A evolução no estudo do envolvimento de *E. coli* em doenças entéricas de bezerros tem sido paralela a pesquisas similares feitas com outros animais, incluindo seres humanos. São seis patótipos capazes de causar diarreia em humanos e/ou animais; *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* difusamente aderente (DAEC) (Croxen e Finlay, 2010). Em bovinos, os principais patótipos associados a diarreia são ETEC, EPEC e *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga/*Escherichia coli* enterohemorrágica (STEC/EHEC) (Butler & Clarke, 1994).

A patogenicidade das amostras do ETEC, mais comumente encontrada em diarreia de bezerro é devida aos fatores de colonização e enterotoxinas. Dois atributos caracterizam ETEC: a colonização da porção inferior do

intestino e a produção de enterotoxinas, dentre elas a toxina termo-lábil (LT) e a toxina termo-estável (ST) (Nataro & Kaper, 1998). Após a ingestão da ETEC, a bactéria multiplica e coloniza o intestino delgado através das fímbrias. As principais adesinas fimbriais de bezerros são a F5 e F41 e sabe-se que a primeira é expressa em ambientes com pH baixo (< 6,5) e a idade determina a susceptibilidade, uma vez que diminui a partir das 12 horas de vida até duas semanas de idade (Butler e Clark, 1994; Foster e Smith, 2009; Gyles e Fairbrother, 2010).

Apesar da doença ser mais comum em animais de até três dias de idade, pode ocorrer casos de colibacilose mais precoce, aparecendo cerca de 8-10 horas após o parto. Ocasionalmente, acomete bezerros com vários dias de idade, quando há infecção mista com outros patógenos, principalmente os virais. A taxa de mortalidade da doença aumenta em bezerros com baixa concentração sérica de imunoglobulinas colostrais. Logo, a doença está ligada a falhas de manejo da propriedade, como condição sanitária da maternidade e do bezerreiro, lotação, cura de umbigo, falha na colostragem, ou seja, condições que podem predispor o aparecimento da doença (Radostits et al., 2007).

A STEC é a *E. coli* produtora de pelo menos umas das toxinas shiga (Stx1, Stx2 e suas variantes). A Stx inibe a síntese protéica, que é letal para a célula. Algumas STEC além de produzirem Stx, possuem uma ilha de patogenicidade denominada *locus of enterocyte effacement* (LEE), cujos genes codificam os elementos responsáveis pela lesão intestinal A/E (*attaching and effacing*), estas são denominadas *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) (Gyles, 2007; Gyles e Fairbrother, 2010)..

Como foi dito anteriormente, a EHEC apresenta em seu cromossomo a ilha de patogenicidade LEE, local onde está

inserido o gene *eae* responsável pela produção de intimina. A intimina é uma molécula de adesão que realiza a ligação íntima da bactéria a célula do hospedeiro (Debroy e Maddox, 2001). A lesão intestinal A/E é caracterizada pela destruição da microvilosidade intestinal, aderência íntima da bactéria ao epitélio intestinal, formação de pedestal e agregação da actina polimerizada e outros elementos no sítio da adesão bacteriana (Kaper et al., 2004).

Em 15 propriedades leiteiras da região nordeste do Estado de São Paulo, Ambrosim et al. (2002) coletaram amostras fecais de 266 bezerros com até 90 dias de idade, com e sem diarreia, para determinar a frequência de enteropatógenos, dentre eles a *Escherichia coli*. Foram encontradas 127 amostras da bactéria (47,74%), sendo 60 amostras enterotoxigênicas (22,55%).

Salvadori et al. (2003) pesquisaram, na região do Centro-Oeste do Brasil, encontrou prevalência de *E. Coli* produtora de toxinas de 8,3% para LT-II e 3,9 % para STa, de 205 amostras de fezes de bezerros com diarreia.

Langoni et al. (2004) analisaram 203 amostras de fezes de bezerros com até 30 dias de idade. A *E. coli* estava presente em todas as amostras, mas a pesquisa de toxina termoestável e do antígeno K99 foi negativa.

Rigobelo et al. (2006) relataram que 49,1% das cepas isoladas de amostras da região de Ribeirão Preto produziram toxinas, sendo que 85,5% apresentaram *E. coli* produtora de toxina STa e 14,5% produtora de toxina LT. Ferreira (2009) isolou 90,22% de *E. coli* das fezes de bezerro, no entanto não foi encontrada nenhuma amostra positiva para *E. coli* F5.

3.4.6. Salmonella

A salmonelose é causada por uma bactéria gram-negativa, não esporulada anaeróbia facultativa (Argenzio 1985; Lax et al 1995).

Cepas de *Salmonella* importantes na medicina humana e veterinária são classificadas em uma única espécie *Salmonella enterica* subespécie enterica. Os subtipos são divididos em sorogrupos (B, C1, C2, E entre outros) com base em antígenos somáticos (O) e em sorotipos com base em células somáticas e flagelar (H). Nomes são dados para os sorotipos mais comuns, tais como Typhimurium, Newport e assim por diante. Apesar de existir mais de 2.400 sorotipos identificados, apenas cerca de 50 estão envolvidos nas infecções em seres humanos e animais (Wray & Wray, 2000).

Os sorotipos de *Salmonella* podem ser divididos em hospedeiro restrito, hospedeiro específico e sorotipo generalista. O hospedeiro específico causa doença somente em uma espécie de hospedeiro (Baumbler et al., 1998; Uzzau et al., 2000). O sorotipo hospedeiro restrito está predominantemente associado a uma espécie de hospedeiro, mas pode causar doença em outra espécie. A *Salmonella dublin*, por exemplo, é adaptada ao bovino, mas tem causado infecções em pequenos ruminantes, suínos e humanos e o sorotipo *Choleraesuis* está adaptado ao suíno, porém tem sido isolado em outras espécies (Smith e Jones, 1967; Olsen e Skov, 1994). Sorotipos generalistas, comumente causam doença em grande variedade de hospedeiros, como por exemplo, a *Salmonella typhimurium* (Gyles, 2004).

Embora a *Salmonella muenster* não seja conhecida como principal causa de salmonelose em bovinos, Radostitis (1994), em um estudo de prevalência no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), apontou a *S. muenster* como o sétimo soro tipo mais prevalente, respondendo por 4,7% dos isolados de *Salmonella* spp. Kanistanon (1997), avaliando os registros de amostras de bovinos submetidos para culturas de salmonelas em quatro regionais no estado da Virginia, relatou prevalência de 75,23%

de *S. typhimurium*, 2 25 % de *S. muenster* e 0.9% de *Salmonella infantis*.

No início de 1980, em um surto ocorrido no sudoeste de Ontário, foi relatada prevalência de 22% de *S. Muenster* (Barnum , 1983; Stiliardys e Barnum, 1984). Em 1986, foi encontrado prevalência de 2,9% de *S. Muenster* em amostras de leite cru em rebanhos leiteiros no sudoeste de Ontário (McEwen et al, 1987; McEwen et al, 1988).

Em estudo longitudinal de um rebanho leiteiro com *S. Muenster*, provavelmente introduzida pela adição de novos animais ao rebanho, seis vacas abortaram ou tiveram diarreia devido à salmonelose no último trimestre de prenhez. Um recém-nascido morreu, e 24 de 36 bezerros nascidos, no período de seis meses, tiveram diarreia com um mês de idade. O padrão de resultados de cultura fecal variou entre as vacas. Das 187 vacas que tiveram mais de duas amostras de fezes cultivadas, 35% (66/187) foram negativas em pelo menos uma cultura intercaladas com culturas positivas. Inversamente, 65 vacas tiveram quatro a oito coproculturas consecutivas positivas e posteriormente, 55 destas vacas tiveram culturas negativas e as 10 vacas restantes foram abatidas. O padrão de resultados da cultura de fezes dos bezerros foi semelhante ao das vacas (Radke et al., 2002).

A *S. infantis* estava entre os primeiros cinco sorotipos em ordem de frequência e representava 3,5% do total de *Salmonella* isolados na província de Quebec. Após uma epidemia em um hospital local, em 1976, foi decidido desenvolver um sistema de fagotipagem para *S. infantis* para rastrear a origem da infecção. A *Salmonella infantis* foi o sorotipo mais comum entre os animais e a terceira causa mais comum de salmonelose humana na Finlândia (Pelkonen et al, 1994).

Em 1995, ainda na Finlândia, ocorreu um surto de *Salmonella* entérica sorotipo *infantis* em fazendas de gado alimentados

com ração contaminada. *S. infantis* é endêmico em aves neste país desde os anos de 1970 e tem sido o sorotipo mais comum em bovinos na década de 1990. Devido ao aumento da distribuição de ração contaminada, a prevalência de *S. infantis* em rebanhos bovinos aumentou de 0 a 8% em 1995 (Lindqvist et al., 1999).

Clinicamente, a infecção por *Salmonella* em bovinos manifesta-se como diarreia aquosa ou sanguinolenta, e muitas vezes associada com febre, depressão, anorexia, desidratação e endotoxemia. Manifestações mais raras como aborto e doenças respiratórias podem ocorrer com aumento da mortalidade. Em bovinos adultos, a *Salmonella* causa, freqüentemente, a doença subclínica e tende a persistir nas fazendas infectadas durante meses ou anos (Giles et al., 1989; Wray et al., 1989). A infecção por *S. Dublin* é comum e ocorre isoladamente, mas também pode ocorrer em surtos se algum fator estressante estiver envolvido em bovinos adultos (Brackelsberg et al., 1997).

Nos bezerros a doença é comum até os três primeiros meses de idade, ocorre após a primeira semana de vida e os sinais são vistos por volta de duas a seis semanas de idade (Wray e Davies, 2000; Silva et al. 2008). A disseminação entre os bezerros, em sistema coletivo, ocorre através da infecção fecal-oral, sendo que os recém-nascidos podem se infectar em contato com a mãe, que saem do estado de portadora em latência para portadora ativa, contaminando o ambiente e conseqüentemente o bezerro (Wray e Sojka, 1981).

O diagnóstico da salmonelose é através do isolamento do agente em fezes ou tecidos contaminados, utilizando diversos meios com enriquecimento seletivo. Existem outros métodos de diagnóstico, no entanto é necessário detectar ou isolar a bactéria, associando com a doença, uma vez que a *Salmonella* spp. pode ser encontrada nas

fezes de animais saudáveis (House e Smith, 1998; Mohler et al., 2009).

A severidade da doença e duração dos sinais clínicos estão relacionados com a higiene do ambiente, manejo, virulência da estirpe, dose infectante, imunidade, nutrição e presença de fatores estressantes. Em propriedades com condições precárias, 80% dos bezerros podem desenvolver sinais clínicos, com taxas de mortalidade de 10 a 50%, sendo a taxa de mortalidade inversamente proporcional à idade dos animais (Wray e Davies, 2000; Silva et al., 2008; Santos et al., 2002).

Costa et al. (1979) demonstraram prevalência de 9,0% para *Salmonella* spp. em 11 municípios da Bacia leiteira de Goiânia; Oliveira et al. (1989) de 10,6% para *Salmonella* dublin em regiões leiteiras no Estado de Sergipe; Ribeiro et al. (2000) não encontraram *Salmonella* em amostras de fezes da região do Estado de São Paulo; Langoni et al. (2004) relataram a ocorrência de 5,4 % de *Salmonella* Dublin e 6,1 % de *Salmonella* typhimurium de diferentes propriedades do Estado de São Paulo; Oliveira Filho et al. (2007) e Ferreira (2009) não detectaram a bactéria das amostras da região do Mato Grosso e Minas Gerais, respectivamente. Coura (2011) relatou 22% de *Salmonella*, sendo 63% *Salmonella* agona, 9% *Salmonella* interitidis, 4,5 % de *Salmonella* entérica subsp. Enterica de amostras da região de MG.

3.5. Bioquímica

3.5.1. Glicose

A glicose é a fonte de energia do sistema nervoso central e fonte primária de energia para os tecidos (Radostits et al., 2007). A concentração de glicose sanguínea tem como fonte a absorção intestinal, produção hepática e renal. Nos ruminantes, a gliconeogênese é a fonte mais importante de glicose que ocorre através da

neoformação das ligações glicoplasmáticas, principalmente propionato e aminoácidos glicoplasmáticos (Kolb et al., 1987). No entanto, durante a fase de aleitamento, as fontes de energias são derivadas principalmente da absorção intestinal do leite (Dirksen et al., 1993; Radostits et al., 2007).

O perfil sanguíneo dos bezerros jovens é indicativo dos padrões de funcionamento e desenvolvimento do rúmen. Logo, a origem da glicose plasmática nos bezerros lactentes pode ser tanto da fermentação ruminal, através da gliconeogênese hepática a partir do propionato, ou da absorção intestinal oriunda da alimentação láctea (Quigley et al., 2006).

A glicemia é regulada por um complexo e eficiente mecanismo de retroalimentação e controle hormonal para assegurar concentrações razoavelmente constantes de glicose, independente do estado de abundância ou carência. Em circunstâncias normais do dia-a-dia, o glucagon e a insulina são responsáveis pela manutenção das concentrações adequadas de glicose, enquanto que em estados anormais, como jejum prolongado ou estresse, os glicocorticóides e adrenalina são importantes (Kerr, 2002; Castro et al., 2009). Portanto, a concentração sanguínea da glicose é influenciada pela ingestão de alimentos e regulada pela ação dos hormônios pancreáticos, insulina e glucagon. Os valores fisiológicos de glicose para os bovinos variam entre 45 a 75 mg/dL (Meyer et al., 1995).

Para bezerros, os valores de referência para glicose são superiores. Luchini et al. (1993) relataram níveis plasmáticos de glicose de 100, 71, 70 e 70 mg/dL aos 21, 28, 36 e 42 dias de vida em bezerros aleitados até aos 26 dias. Costa et al. (2007) avaliaram a glicemia de bezerros aos 14, 21 e 28 dias de idade e encontraram 90, 75 e 75mg/dL, respectivamente. Bezerros com distúrbios de má absorção causados por diarreia,

septicemia, ou desnutrição podem apresentar baixas concentrações séricas de glicose (Monke et al, 1998). Enquanto, estresse com aumento de glicocorticóides (endógenos ou exógenos) pode induzir hiperglicemia (Rosol e Capen, 1997).

3.5.2. Lactato sérico

O lactato é produzido por células de diversos órgãos e tecidos em situações de anaerobiose. Musculatura esquelética, cérebro, coração, pele, trato gastrointestinal e hemácias são seus maiores produtores em condições normais. Hiperlactatemia é a elevação na concentração de lactato e acidose láctica é a elevada concentração de lactato, acompanhada por uma diminuição no pH sanguíneo (Allen e Holm, 2008).

Historicamente, a acidose metabólica em bezerros diarreicos era associada à perda de bicarbonato pelas fezes e à desidratação, com redução da perfusão renal e da excreção de íons de H^+ . A formação de L-lactato, em virtude da hipoperfusão do tecido durante a glicólise anaeróbica, por longo tempo foi considerada a causa da acidose com valores elevados *ânion gap* (diferença entre os cátions e ânions mensuráveis extracelulares) em bezerros com diarreia neonatal (Hartmann et al, 1981). No entanto, Grove-White (1993) sugeriu que a produção de ácido láctico exógeno, produzido pelas bactérias fermentadoras de carboidrato, seja o principal contribuinte para acidose em bezerros diarreicos.

O rúmen tem sido apontado como importante fonte de ácidos orgânicos, especialmente os isômeros D- e L- lactato, não apenas em bovinos adultos, mas também em bezerros lactentes. As possíveis causas de fermentação de carboidratos no rúmen retículo destes bezerros incluem: alimentação forçada através do uso de sonda, disfunção do reflexo da goteira esofágica e refluxo do conteúdo abomasal.

Como os mamíferos não apresentam mecanismos eficientes para metabolizar o D- lactato, o acúmulo deste isômero no sangue pela absorção no trato gastrointestinal pode provocar o quadro de acidose láctica, uma forma específica da acidose metabólica, contendo elementos da acidemia, hipercalemia e aumento do lactato no sangue (Lorenz, 2004).

Em bovinos jovens, as concentrações séricas de lactato variam entre 0,4 a 2,2 mmol/L, com valor médio de 1,3mmol/L (Freitas, 2009). Segundo Dirksen et al. (1993) a sua interpretação é limitada, pois o estresse também influencia nos valores deste metabólito. Nos equinos e carnívoros domésticos, existe correlação entre o aumento do lactato sérico e alterações no trato gastrointestinal (Furr et al., 1995). Osmole et al. (2001), afirmaram que as concentrações de lactato sérico aumentam em bezerros com diarreia, enquanto Gentile et al. (2004) e Lorenz (2004) afirmam que essa relação precisa ser melhor estudada. Freitas (2009) não encontrou diferença estatística nas concentrações de lactato em bezerros diarreicos, pois o aparelho utilizado mensurava somente o L-lactato, metabólito de menor importância na patogenia da acidose metabólica ocorrida em consequência das diarreias dos bezerros, uma vez que é facilmente metabolizado pelo organismo (Osmole et al, 2001).

3.5.3. Função renal

Os rins são responsáveis por funções vitais como: eliminação de resíduos nitrogenados, a capacidade de concentrar a urina para conservar a água do corpo e regulação do equilíbrio ácido-básico. O perfil bioquímico e análise de urina são utilizados para avaliar essas funções e são úteis para o diagnóstico de doença renal (Kaneko et al., 2008).

A uréia é uma substância gerada pelo catabolismo dos aminoácidos e da microflora intestinal, é reconhecida também

por ser a forma atóxica de secreção da amônia (Smith, 2006). A síntese da uréia ocorre no fígado, de onde é transportada pelo plasma até os rins, a fim de ser eliminada na urina. Durante este trajeto, sua concentração pode ser mensurada no plasma e está sujeita à interferência de variados fatores, tais como dieta, septicemia, anormalidades hormonais, estado catabólico, dentre outros. Nos rins, a uréia é filtrada livremente através dos glomérulos e difunde passivamente para fora dos túbulos, a uma taxa que depende da taxa de fluxo de urina através os túbulos. O resto do filtrado da uréia é excretado na urina. A reabsorção da uréia é inversamente relacionada com a taxa de fluxo de urina através dos túbulos (Kerr, 2002; Kaneko et al., 2008).

A creatina é produzida no fígado e é derivada de aminoácidos. Esta circula no plasma antes de ser captada pela musculatura esquelética, onde é estocada como energia na forma de fosfocreatina. Creatina é convertida em creatinina através de uma reação não enzimática irreversível, e posteriormente é lançada na corrente circulatória. Logo, a creatinina é liberada da musculatura esquelética em concentração mais ou menos constante, já que é reflexo da massa muscular, a qual não se altera rapidamente (Radostits et al., 2007).

A creatinina é utilizada como um bom indicador da taxa de filtração glomerular, pois a sua produção e excreção são mais constantes e por não ser metabolizada por processos renais ou extra-renais (Thrall et al., 2006).

O nitrogênio ureico do sangue (BUN) e uréia são subprodutos do metabolismo do nitrogênio e, associados à urinálise, funcionam como indicadores mais práticos de insuficiência renal. Ambos são excretados pelos rins e à medida que a taxa de filtração glomerular diminui, suas concentrações plasmáticas elevam-se,

resultando em um quadro conhecido como azotemia (Thrall et al, 2006).

O desenvolvimento de um quadro de insuficiência renal pode ter diversas causas como diminuição do fluxo sanguíneo para os rins (desidratação, insuficiência cardíaca ou choque) ou falha para excretar urina na ruptura ou obstrução do trato urinário, com consequente elevação das concentrações séricas de BUN e creatinina. Caso os mesmos não sejam excretados de forma adequada, suas concentrações irão aumentar (azotemia) e isto poderá levar o animal a desenvolver sinais clínicos de acúmulo de toxinas urinárias, conhecido como uremia. Tal aumento não ocorrerá até que cerca de 75% a 90% dos néfrons estejam afunccionais (Thrall et al, 2006).

3.5.4. Função hepática

Atividade enzimática sérica aumentada pode ser resultado de extravasamento ou indução. As enzimas podem ser liberadas na corrente sanguínea quando a lesão altera a membrana celular, recebendo a denominação de enzimas de extravasamento. O termo, indução, envolve aumento da produção de uma enzima pelas células que normalmente produzem as mesmas em pequenas quantidades (Thrall et al, 2006).

O citosol de hepatócitos contém elevada atividade de enzimas aspartato aminotransferase (AST), L-iditol desidrogenase (IDH), ornitina carbamilltransferase (OCT), lactato desidrogenase (LDH), e estas são geralmente reconhecidas como enzimas de extravasamento. Com lesão hepatocelular aguda ou crônica ou necrose, aumenta o extravasamento dos hepatócitos destas enzimas para o soro (Russell e Roussel, 2007).

A enzima ALT (alanina aminotransferase) tem grande importância para avaliar lesão hepatocelular em pequenos animais,

entretanto, nos ruminantes esta enzima se encontra em níveis menores, sendo de pouca relevância para avaliar lesão hepática (Lechtenberg e Nagajara, 1991).

As enzimas, AST, LDH e IDH são as enzimas mais comumente disponíveis nos Estados Unidos para avaliar a lesão hepatocelular em ruminantes. O aumento da atividade destas enzimas pode ser vista em infecções, inflamações, lesões tóxicas, metabólicas ou insultos no fígado. Na doença hepática crônica, a atividade da enzima pode ser maior ou menor do que o intervalo de referência, pois os hepatócitos são poucos danificados ou a massa hepatocelular é substancialmente reduzida. Por conseguinte, estas enzimas podem ser indicadores mais sensíveis na doença aguda, tais como hepatite infecciosa ou tóxica. A atividade da enzima pode também ser elevada em ruminantes com lipídose hepática, congestão venosa passiva e em doenças que provocam a distensão dos pré-estômago e abomaso (Lechtenberg e Nagajara, 1991).

A gama-glutamil transferase (GGT), é considerada uma enzima de indução e é sintetizada pela maioria dos tecidos, com atividade mais alta ocorrendo no pâncreas, rins e glândula mamária de caninos, bovinos, caprinos e ovinos (Keller, 1981; Kaneko et al., 2008). Thompson e Pauli (1981) reportaram que a grande atividade de gama glutamil transferase (GGT) no soro sanguíneo de bezerros recém-nascidos é conseqüente à absorção integral das moléculas da enzima presentes no colostro. Fagliari et al. (1996) verificaram a existência de correlação positiva entre os valores de gama globulina e a atividade da GGT, com variações acentuadas entre os valores no momento do nascimento e aqueles verificados 24 a 30 horas após o nascimento.

A fosfatase alcalina (ALP) é uma enzima de indução e uma das mais amplamente distribuídas no corpo. A enzima participa

de um grupo de várias isoenzimas, as quais hidrolisam fosfato em pH alcalino e são encontradas particularmente nos osteoblastos, fígado e parede intestinal, embora também sejam sintetizadas nos rins, pâncreas e placenta. Atividade mais alta de ALP é encontrada em animais jovens com elevada atividade osteoblástica. Após o fechamento das placas de crescimento epifisário, a atividade da mesma é reduzida e é principalmente de origem hepática (Keller, 1981; Kerr, 2002).

A lactato desidrogenase (LDH) catalisa a conversão reversível piruvato a lactato e é uma das maiores moléculas protéicas do corpo (Kerr, 2002). Elevação na atividade enzimática sérica de LDH, normalmente deve ser avaliada com relação às outras enzimas que sejam mais específicas, uma vez que os seus limites de sensibilidade e especificidade são reduzidos (Smith, 2006; Kaneko et al., 2008). Segundo Zarrilli (2003) a atividade das enzimas hepáticas ALT, LDH e GGT, em ordem crescente, é alta em colostro de ovelha.

A bilirrubina é um produto da degradação da hemoglobina. No sangue, a bilirrubina é ligada à albumina e transportada para o fígado, onde se torna conjugada e desta forma é excretada na bÍlis. Em bovinos saudáveis, a concentração da bilirrubina total é baixa em comparação com a de outras espécies e a magnitude do aumento tende a ser relativamente pequena e inconsistente, mesmo na doença hepática grave (Thrall, 2004). Ruminantes com doença hepática podem ter hiperbilirrubinemia moderada, no entanto, isto também não é comumente encontrando (Cornelius, 1989). Os aumentos dos níveis de bilirrubina não conjugada ou indireta são o resultado de decomposição rápida de hemoglobina, que pode ser visto em doenças que causam hemólise aguda.

3.5.5. Albumina

A albumina é sintetizada no fígado e é a principal proteína responsável pela pressão

oncótica no plasma. A hiperalbuminemia pode ser causada pela desidratação. A hipoalbuminemia ocorre quando há perda excessiva de albumina hepática ou quando a produção é insuficiente para atender a demanda, como resultado de uma produção insuficiente ou o aumento do consumo. Produção insuficiente de albumina pode ocorrer em animais com doença hepática crônica grave ou como resultado da ingestão inadequada de proteína e/ou disfunção na digestão ou absorção. Quando a relação de albumina/globulina é baixa, pode-se suspeitar de doença inflamatória crônica. Em doenças agudas e subagudas, a hipoalbuminemia é frequentemente atribuída à perda de albumina através do rim (particularmente o glomérulo), do trato gastrointestinal, hemorragia ou exsudação (Roussel et al., 1982; Kaneko, 1997).

4. Material e métodos

4.1. Local e período

O experimento foi realizado em um bezerreiro experimental tipo argentino

(Figura 1) localizado na Escola de Veterinária da UFMG em Belo Horizonte, Minas Gerais. O período do experimento foi de setembro a março de 2012. A temperatura mínima variou entre 15 e 29°C e a máxima entre 23 e 41°C. A pluviosidade foi de 1059 mm em 185 dias.

4.2. Instalações e manejo

Os bezerros foram alojados individualmente em um bezerreiro (Figura 1) com capacidade para 42 bezerros em piquete com cobertura vegetal de grama batatais (*Paspalum notatum*), com cinco metros de arame para correr e espaçamento de quatro metros entre os arames. Os animais foram presos ao arame com correntes de um metro de comprimento. Em uma das extremidades do arame havia suporte para dois baldes e na outra extremidade apresentava uma área de sombra com 8,5m²/animal proveniente de uma tela com 80% de bloqueio solar.



Figura 1. Imagem das instalações do experimento

4.3. Animais

Foram utilizados 22 bezerros machos, recém nascidos, da raça Holandesa, oriundos de uma mesma propriedade leiteira, localizada no município de Inhaúma, distante 90 km de Belo Horizonte. Logo após o nascimento, ainda na fazenda, foi realizada a cura do umbigo com solução de iodo e colostragem com auxílio de mamadeira, num volume de dois litros nas primeiras duas horas de vida.

Os animais foram transferidos para a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais nos primeiros dias de vida com um a três dias de vida. Após a chegada dos animais, foi realizada novamente a cura de umbigo com solução de iodo a 7% por três dias. Todos os bezerros foram aleitados com quatro litros de sucedâneo (Lacthor¹) e água à disposição todo o tempo até o terceiro dia de vida para adaptação e após este período iniciou-se o tratamento pré-

definido e o fornecimento de concentrado à vontade.

Os animais foram distribuídos em três grupos de forma aleatória e receberam os tratamentos descritos no quadro 1.

¹Tortuga, Companhia Zootécnica Agrária, São Paulo, Brasil

Quadro 1: Distribuição dos animais nos grupos 1, 2 e 3 em seus respectivos tratamentos

GRUPO	ANIMAIS	TRATAMENTO
1	8	<ul style="list-style-type: none"> • Foram oferecidos quatro litros de sucedâneo de leite/dia; • Tratados durante a diarreia com fluidoterapia oral.
2	9	<ul style="list-style-type: none"> • Foram oferecidos seis litros de sucedâneo de leite/dia; • Tratados durante a diarreia com fluidoterapia oral.
3	5	<ul style="list-style-type: none"> • Foram oferecidos seis litros de sucedâneo de leite/dia; • Tratados durante a diarreia com soro oral e enrofloxacina (7,5mg/Kg) via oral, adicionada ao sucedâneo por cinco dias e flunixin meglumine (2,2 mg/Kg) durante três dias.

O trabalho foi dividido em experimento I e experimento II, sendo que os grupos 1 e 2 fizeram parte do experimento I e os grupos 2 e 3 do experimento II.

Para todos os grupos foi fornecido sucedâneo conforme a tabela 2.

Tabela 2: Concentração de garantia do sucedâneo de leite (Lactor, Tortuga)

	Por kg do produto	Por litro do sucedâneo preparado (1:8)
Proteína bruta (mín)	225,0 g	28,1 g
Gordura vegetal (mín)	170,0 g	21,3 g
Matéria mineral (máx)	95,0 g	11,9 g
Fibra bruta (máx)	2.000,0 mg	250,0 mg
Cobre (mín)	9,0 mg	1,1 mg
Vitamina A (mín)	55.000 U.I	6,9 U.I
Vitamina D3 (mín)	45.000 U.I	562,5 U.I
Vitamina E (mín)	80,0 U.I	10,0 U.I
Lactose	440,0 g	55,0 g

Foi fornecida água à vontade em balde com capacidade para oito litros e trocada duas vezes ao dia. O aleitamento foi realizado duas vezes, pela manhã e pela tarde.

Todos os três grupos foram submetidos a tratamento com dois litros de fluidoterapia oral (tabela 3) no período da diarreia, duas vezes ao dia duas horas após o fornecimento do sucedâneo.

Tabela 3: Formulação do soro oral

Componente	Quantidade por Litro de água
Cloreto de sódio	5 g
Cloreto de potássio	1g
Bicarbonato de sódio	2g
Acetato de sódio	2g
Glicose de milho	20g

4.4. Coleta de material (Experimento I e II)

Foram coletadas três amostras de sangue (cinco mL) em cada momento de todos os animais para avaliação bioquímica, por punção da jugular, utilizando tubos tipo vacutainer com EDTA, com fluoreto de sódio e sem anti-coagulante. Essas amostras foram obtidas no momento da chegada dos animais ao bezerreiro (a partir do 3º dia de vida) nos bezerros com cinco dias de vida e no 1º, 2º, 3º, 5º e 7º dia após o início da diarreia naturalmente adquirida antes do primeiro aleitamento do dia, cerca de sete horas da manhã. As amostras de sangue foram centrifugadas 3500 rpm por dez minutos imediatamente após a coleta, aliqüotadas em microtubos de 0,5 mL e conservadas congeladas a -20°C e parte das amostras resfriadas a 4°C.

A partir do 1º dia de chegada dos bezerros foram avaliadas as fezes diariamente após o aleitamento da manhã através da estimulação retal com uma leve pressão na parte dorsal da ampola retal para a classificação das fezes em diarreicas ou não diarreicas. Do primeiro dia de diarreia até o sétimo dia, as fezes foram coletadas, em dias alternados (1º, 3º, 5º e 7º), diretamente

da ampola retal para avaliação dos enteropatógenos. Após a coleta, as amostras foram resfriadas a 4°C e na mesma semana processadas para avaliação dos enteropatógenos.

4.5. Exame de fezes (Experimento I e II)

4.5.1. Pesquisas dos agentes virais e bacteriológicos

A pesquisa das enterobactérias e do *Rotavirus* bovino do grupo A foi realizada no Laboratório de Gastroenterites Transmissíveis dos Animais da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

Foi diluído 1g de fezes em tampão de estabilização (TERV) de *Rotavirus* em proporção 1:4 e congelada para pesquisa dos agentes virais. Parte desta suspensão fecal (3 mL) foi aliqüotada em microtubo de congelamento de 1,5 mL e armazenada a -20°C para posterior exame virológico.

Para a pesquisa das enterobactérias, um mL da suspensão fecal em TERV foi transferido

para o meio não seletivo de pré-enriquecimento (água peptonada) e incubado a 37°C por 18-24 h. Após este período, com auxílio de alça flambada, as amostras foram repicadas em ágar MacConkey, sendo as placas incubadas na estufa à 37°C para isolamento de *Escherichia coli*. Para isolamento de *Salmonella* spp, uma alíquota (um mL) do meio de pré-enriquecimento não seletivo foi transferido para o meio seletivo Tetrathionato de Sódio, sendo novamente incubado à 37°C em aerobiose por mais 24 h. Em seguida foi semeado em placas de ágar XLT-4 e ágar Hektoen, específicos para *Salmonella* spp (Waltman 2000).

De cada placa estriada foram selecionadas até três colônias que apresentavam aspecto morfológico sugestivo de *Escherichia coli* ou *Salmonella*. Para identificação de *Salmonella* foi realizado a técnica de PCR segundo Silva et al. (2009).

As colônias classificadas como *Salmonella* spp. foram enviadas ao Laboratório de Referência em *Salmonella* no IOC/FIOCRUZ (Rio de Janeiro/RJ) para sorotipagem.

Os fatores de virulência de *Escherichia coli* foram identificados pela técnica de PCR multiplex, utilizando pares de *primers* (tabela 4) para detecção dos genes codificadores para *K99*, *F41*, intimina (*eae*), toxina Shiga 1 e 2 (*Stx1* e *Stx2*, respectivamente) e toxina termo-estável (*STa*) (Franck et al., 1998). Na tabela 1 estão apresentadas as sequências de nucleotídeos dos *primers* utilizados e os respectivos tamanhos de fragmento amplificados esperados. Como controles positivos foram utilizados duas amostras padrão de *E. coli* denominadas EDL33 (contendo os genes codificadores para *Stx1*, *Stx2* e Intimina) e B41 (contendo os genes codificadores para *K99*, *F41* e *STa*). Como controle negativo foi utilizado água ultrapura.

Tabela 4: Primer usados na PCR multiplex para identificação dos genes de virulência de *E. coli* e tamanho do produto amplificado, em pares de bases, para cada gene

Iniciador	Genes de Virulência	Sequência dos Iniciadores de Posição 5'- 3'	Amplicon (pb)
1	Stx1 (F)	TTC GCT CTG CAA TAG GTA	555
	Stx1 (R)	TTC CCC AGT TCA ATG TAA GAT	
2	eae (F)	ATA TCC GTT TTA ATG GCT ATC T	425
	eae (R)	AAT CTT CTG CGT ACT GTG TTC A	
3	F41 (F)	GCA TCA GCG GCA GTA TCT	380
	F41 (R)	GTC CCT AGC TCA GTA TTA TCA CCT	
4	K99 (F)	TAT TAT CTT AGG TGG TAT GG	314
	K99 (R)	GGT ATC CTT TAG CAG CAG TAT TTC	
5	Sta (F)	GCT AAT GTT GGC AAT TTT TAT TTC TGT A	190
	Sta (R)	AGG ATT ACA ACA AAG TTC ACA GCA GTA A	
6	Stx2 (F)	GTG CCT GTT ACT GGG TTT TTC TTC	118
	Stx2 (R)	AGG GGT CGA TAT CTC TGT CC	

A classificação em patotipos dos isolados de *Escherichia coli* foram de acordo com seus fatores de virulência. Isolados positivos para os genes de virulência *K99* e/ou *F41* e *STa* foram denominados de *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), para *Stx1* ou *Stx2* de *Escherichia coli* produtoras de Shiga toxinas 1 e/ou 2 (STEC), para *eae* de *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC), para *Stx1* e/ou *Stx2* e *eae* de *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC).

O diagnóstico de *Rotavirus* bovino foi realizado por meio da técnica padrão de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) segundo Herring et al, 1982.

4.5.2. Pesquisa dos agentes parasitários

Os exames para pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* e *Eimeria* e de cistos de *Giardia* foram realizados no laboratório de Clínica de Ruminantes da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

A contagem do número de oocistos de *Eimeria* por grama de fezes (OPG) foi realizada na câmara de McMaster pelo método de Gordon e Whitelock Modificado (Ueno e Gonçalves, 1998) e a pesquisa qualitativa dos oocistos de *Cryptosporidium* através do método de centrifugo-sedimentação em água-éter e coloração modificada de Ziehl-Neelsen (Garcia e Bruckner, 1988).

A pesquisa qualitativa de cistos de *Giardia* foi feita através da concentração por centrifugo-flutuação em solução saturada de sacarose (Ogassawara et al, 1989).

4.6. Exame de sangue

As análises clínicas foram realizadas no laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da UFMG.

Perfil bioquímico:

Foi mensurado o lactato do plasma (tabela 6) através do método enzimático utilizando reagente comercial² e espectrofotometria³.

A concentração sérica de glicose, dosagens de minerais (Ca, P, Mg, Cl), AST, ALT, GGT, fosfatase alcalina, albumina, proteína total, LDH e creatinina (tabela 5 e 6) foram determinados no aparelho semi automático⁴, utilizando os kits comerciais⁵.

Os minerais sódio e potássio (tabela 5) foram dosados no plasma no aparelho fotômetro de chama 7000 Tecnow no Laboratório de Toxicologia da Escola de Veterinária da UFMG.

²Bioclin

³Bioplus 2000

⁴Cobas, modelo Mira

⁵Sinermed

Tabela 5: Valores de referência para concentração sérica de sódio, potássio, cloro, cálcio, magnésio e fósforo

Parâmetros	Bovinos			
	Freitas, 2009 Bezerros	Carlson, 1997	Rasdotits et al., 2007	Kaneko et al., 2008
Na (mEq/L)	136,4- 137,6	132-152	132-152	132-152
K (mEq/L)	4,4-4,6	3,9-5,8	3,9-5,8	3,9-5,8
Cl (mEq/L)	98,4-99,8	97-111	95-110	97-111
Ca (mg/L)	-	9,7-12,4	9,7-12,4	9,7-12,4
Mg (mg/L)	-	1,8-2,3	1,8-2,3	1,8-2,3
P (mg/L)	-	5,6-6,5	5,6-6,5	5,6-6,5

Fonte: Adaptado de diversos autores

Tabela 6: Valores de referência para concentração sérica de AST, ALT, LDH, GGT, fosfatase alcalina, bilirrubina total, uréia, creatinina, albumina, proteína total, lactato e glicose.

Parâmetros	Valor de referência	Autor
AST (U/L)	13,5-19,0	Benesi et al., 2003
ALT (U/L)	0-500	Radostits et al., 2007
LDH (U/L)	264-551	Lumsden et al., 1980
GGT (U/L)	24-945	Benesi et al., 2003
Fosfatase Alcalina (U/L)	0-500	Radostits et al., 2007
Bilirrubina total (mg/dL)	0,350-1,360	Benesi et al., 2003
Uréia (mg/L)	19,8-31,85	Benesi et al., 2003
Creatinina (mg/dL)	1,28-2,65	Benesi et al., 2003
Albumina (g/dL)	2,1-3,6	Radostits et al., 2007
Proteína total (g/dL)	5,7-8,1	Radostits et al., 2007
Lactato (mmol/L)	1,9-2,6	Freitas, 2009
Glicose (mg/dL)	72-87	Khan et al., 2007b

Fonte: Adaptado de diversos autores

4.7. Análise estatística (Experimento I e II)

Para a avaliação dos parâmetros bioquímicos foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado no arranjo em parcelas subdivididas (Sampaio, 1998). A parcela foi composta pelos parâmetros bioquímicos e na sub-parcela o tempo (dias) de avaliação, conforme modelo abaixo entre os grupos 1 (4 litros) e grupo 2 (6 litros).

$Y_{ijk} = \mu + L_i + e_{ik} + A_j + (LA)_{ij} + \alpha_{ijk}$,
em que:

Y_{ijk} = valor observado no volume i na avaliação j na repetição k .

μ = efeito médio geral

L_i = efeito do volume i sendo i igual a 4 litros, 6 litros

e_{ik} = erro aleatório atribuído a parcela do volume i na repetição k

A_j = efeito da variação j , sendo j dias de avaliação (0,1 2, 3, 5, 7)

$(LA)_{ij}$ = efeito da interação volume x dias de avaliação

α_{ijk} = erro aleatório atribuído a subparcela do volume i na variação j da repetição k.

Entre o grupo 2 (6 litros sem tratamento) e grupo 3 (6 litros com antibiótico e anti-inflamatório).

$Y_{ijk} = \mu + Li + e_{ik} + Aj + (LA)_{ij} + \alpha_{ijk}$, em que:

Y_{ijk} = valor observado no volume i na avaliação j na repetição k.

μ = efeito médio geral

Li = efeito do tratamento i sendo i igual a 6 litros sem tratamento, 6 litros com tratamento

e_{ik} = erro aleatório atribuído a parcela do volume i na repetição k

A_j = efeito da variação j, sendo j dias de avaliação (0,1 2, 3, 5, 7)

$(LA)_{ij}$ = efeito da interação tratamento x dias de avaliação α

α_{ijk} = erro aleatório atribuído a subparcela do tratamento i na variação j da repetição k.

Para o tratamento foi realizado teste de hipótese utilizando o teste F para os contrastes entre os volumes de sucedâneo (4 x 6 litros) e depois entre tratamentos de diarreia dentro dos grupos de seis litros de sucedâneo (6 litros sem tratamento x 6 litros com antibiótico e anti-inflamatório). Para as avaliações foram feitos ajustes de modelo de equação de regressão, admitindo a taxa de erro tipo 1 (alfa 0,05). Para verificação os pressupostos de distribuição de probabilidade normal e homocedasticidade de variâncias foram utilizados os testes de Lilliefors e Cochran, respectivamente.

Comparações com $P \leq 0,05$ foram considerados significativos, enquanto que as comparações com $P \leq 0,10$ foram apresentados como tendência.

Para as variáveis qualitativas dicotômicas foi utilizado o teste exato de Fisher.

A avaliação do comportamento dos enteropatógenos durante os momentos da diarreia (1, 3, 5 e 7) foi realizada de forma descritiva.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os procedimentos do *software* SAEG (SAEG, 2000).

5. Resultados e discussão

5.1. Considerações iniciais

No presente experimento, ocorreram quatro mortes de bezerros durante o período das coletas, sendo dois bezerros do grupo 1 e dois do grupo 2. Três mortes ocorreram com três dias de idade e uma morte (bezerro do grupo 2) ocorreu aos 6 dias de vida. A não ocorrência de mortes no grupo 3 (oferecido seis litros e tratados com anti-inflamatório e antibiótico) sugere eficiência do uso de antibiótico e anti-inflamatório. Foi realizada necropsia desses animais e estas mortes ocorreram devido à desidratação e suas conseqüências. Estes animais foram avaliados no experimento até

o momento do óbito, uma vez que a causa das mortes começou com a diarreia. A maioria das causas de mortalidade em bezerros, do nascimento ao desmame são em decorrência das diarreias e dos problemas respiratórios (Davis e Drackley, 1998). De acordo com McGuirk (2008), a diarreia é apontada como a doença mais importante em bezerros até 30 dias de idade e após este período, a pneumonia se torna mais relevante.

As concentrações de proteína total (PT) mensuradas nos bezerros aos cinco dias de vida demonstraram valores acima de 5,5 g/dL em todos os animais e não foram diferentes entre os animais do grupo 1, 2 e 3 (tabela 7).

Tabela 7: Média das concentrações de proteínas totais (g/dL) dos bezerros aos cinco dias de vida dos grupos 1 (4litros), 2 (6 litros) e 3 (6 litros com antimicrobiano e anti-inflamatório)

Grupos	Proteína total (g/dL)	Desvios	CV	P
Grupo 1	6,33	1,21		
Grupo 2	6,21	1,11		
Grupo 3	6,36	0,73		
Média	6,29	1,03	17,24	Ns

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) ns, $p > 0,05$. CV, coeficiente de variação (%). *, $p < 0,01$. **, $p < 0,05$

Estes resultados indicam que ocorreu adequada transferência de imunidade passiva, uma vez que Godden (2008) afirma que 80% dos bezerros de um rebanho devem apresentar proteína total acima de 5,5 g/dL para se considerar boa a colostragem.

Os pesos dos bezerros dos grupos 1, 2 e 3 também não apresentaram diferença estatística, demonstrando homogeneidade na distribuição dos animais nos grupos (tabela 8).

Tabela 8: Média dos pesos ao nascimento dos bezerros dos grupos 1 (4litros), 2 (6 litros) e 3 (6 litros com antimicrobiano e anti-inflamatório)

Grupos	Peso ao nascimento	Desvios	CV	P
Grupo 1	38,22	3,17		
Grupo 2	37,37	4,6		
Grupo 3	35,38	7		
Média	37,18	4,74	13,08	Ns

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas distintas diferem entre si nas colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) ns, $p > 0,05$. CV, coeficiente de variação (%). *, $p < 0,01$. **, $p < 0,05$

Os pesos foram inferiores aos pesos encontrados na literatura internacional, com valores entre 43,0 e 45,5Kg (Quigley et al., 2006, Khan et al., 2007a). Isso pode estar relacionado à diminuição da expressão genética devido às dificuldades adaptativas da vaca em relação à instalação, clima, nutrição e presença de ectoparasitos.

A idade média de início da diarreia (tabela 9) no grupo 1, 2 e 3 foi, respectivamente, 5,87, 5,11 e 6,6 dias de vida. No grupo 1, a idade de início da diarreia variou entre 1 e 9

dias, no grupo 2 entre 2 e 9 dias e no grupo 3 entre 6 e 8 dias.

Todos os animais dos três grupos apresentaram diarreia nos sete dias avaliados. Coura (2011) observou incidência de diarreia de 100% em bezerros de 0 a 60 dias, sendo que a segunda semana teve a maior ocorrência. Trotz-Williams et al. (2007) e Bartels et al. (2010) também encontraram prevalência maior de diarreia na segunda semana de vida dos bezerros.

Tabela 9: Média e moda da idade de início da diarreia (dias)

	Média	Moda	Varição da idade inicial da diarreia
Grupo 1	5,87	5	1-9
Grupo 2	5,11	5	2-9
Grupo 3	6,6	8	6-8

O grupo 3 (oferecido seis litros e tratado com anti-inflamatório e antibiótico) apresentou maior consumo médio de sucedâneo em relação aos outros dois grupos ($p < 0,01$) e no grupo 2 ocorreu uma tendência ($p < 0,1$) de maior consumo em relação ao grupo 1 (tabela 10 e 11). Possivelmente isso ocorreu em função do

tratamento, com a diminuição do processo inflamatório. Em um estudo com bezerros diarreicos, Todd et al. (2010) demonstraram maior consumo de leite e tendência de maior ganho de peso nos bezerros diarreicos tratados com anti-inflamatório não esteroideal em relação aos não tratados.

Tabela 10: Consumo médio de sucedâneo (litros) antes e durante a diarreia (1-7 dias) em bezerros neonatos por grupo: grupo 1 (oferecido 4 litros) x grupo 2 (oferecido 6 litros)

	Grupo 1	Grupo 2	CV	P
Antes da diarreia	3,99	4,01		
Durante a diarreia (1 a 7 dias)	3,24	4,09		
Média	3,62	4,09	18,22	0,057 ***
Desvio padrão	0,76	0,62		

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na linha, diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$) ns. CV, coeficiente de variação (%). *, $p < 0,01$. **, $p < 0,05$, tendência $p < 0,1$ ***

Tabela 11: Consumo médio de sucedâneo (Litros) antes e durante a diarreia (1-7 dias) em bezerros neonatos por grupo: grupo 2 (oferecido 6 litros) x grupo 3 (oferecido 6 litros)

	Grupo2	Grupo3	CV	P
Antes da diarreia	4,1	4,66		
Durante a diarreia (1 a 7 dias)	4,08	4,87		
Média	4,09	4,77	12,15	0,001 *
Desvio padrão	0,62	0,50		

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na linha, diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$) ns. CV, coeficiente de variação (%). *, $p < 0,01$. **, $p < 0,05$, tendência $p < 0,1$ ***

5.2. Experimento I - Avaliação da influência do volume de sucedâneo de leite sobre os parâmetros bioquímicos e eletrolíticos de bezerros com diarreia e aspectos etiológicos.

5.2.1. Análises bioquímicas

Comportamento do sódio, cloro e potássio

As concentrações de sódio se mantiveram constantes durante o período da diarreia, porém os valores médios foram inferiores aos de referência (136-138 mEq/l) (Freitas, 2009) durante todo o período da enfermidade (tabela 12). Além disso, o grupo 2 que recebeu maior quantidade de sucedâneo de leite apresentou valores mais elevados do que o grupo 1 ($P < 0,05$). Freitas (2009) encontrou hiponatremia em 70 % em bezerros diarreicos, sendo mais evidente

aos 7, 10 e 14 dias de idade quando, respectivamente, 100%, 100% e 67% dos animais apresentaram a concentração de sódio inferior aos valores de referência. O sódio e o potássio são perdidos em grande quantidade nas fezes nos episódios de diarreia (Argenzio, 1985; Constable et al., 1996; Naylor, 1999) seguido de diminuição voluntária da ingestão de leite (Berchetold, 2009). Desta forma, o maior consumo de sucedâneo pelo grupo 2 possibilitou maior

ingestão desses eletrólitos, contribuindo para a manutenção de níveis mais altos do que o grupo 1. Além disso, o soro oral também contribuiu para a manutenção das concentrações estáveis durante os dias de diarreia. É importante salientar que em bezerros diarreicos não hidratados, com o avanço dos dias de diarreia, ocorre agravamento dos distúrbios eletrolíticos e da acidose metabólica (Freitas, 2009).

As concentrações de potássio (tabela 12) foram constantes durante o período da diarreia para os dois grupos (1 e 2), porém atingiram valores abaixo da referência (4,36-4,58 mEq/l) (Freitas, 2009) no primeiro dia de diarreia e do terceiro ao sétimo dia no grupo 1 e apenas no quinto dia no grupo 2. O grupo que recebeu maior quantidade de sucedâneo (grupo 2) exibiu valores mais altos ($p < 0,05$) de potássio durante a diarreia. As perdas de potássio fecais são expressivas nos bezerros diarreicos e podem levar o animal a hipocalcemia (Rebhun, 2000). Porém, apesar das perdas fecais, hipercalcemia relativa pode ser observada nos bezerros diarreicos como um dos mecanismos de compensação da acidose metabólica (Tennant et al., 1972; Freitas, 2009). No presente trabalho, os bezerros foram hidratados com soro contendo cloreto de potássio e, provavelmente, esta reposição do eletrólito foi capaz de manter o potássio, apesar das perdas durante a diarreia. O soro apresenta bicarbonato de sódio como agente alcalinizante, o que provavelmente, contribuiu para o controle do equilíbrio

ácido base e evitou a ocorrência de hipercalcemia relativa. A diferença do potássio sérico entre os grupos pode ser explicada pela diferença de sucedâneo ingerido.

O cloro sérico não variou entre os grupos e entre os momentos ($p > 0,05$) (tabela 12). Freitas (2009) também não encontrou diferença estatística ($p > 0,05$) entre as médias de concentrações séricas de cloro de bezerros hígidos e diarreicos (tabela 12). Resultados semelhantes foram relatados por Santos et al. (2002) e Silva (2007) em experimento com bezerros com diarreia induzida experimentalmente por *S. Typhimurium* e o outro por *S. Dublin*, respectivamente. Clemente et al. (2012) não encontraram diferença do cloro sérico em bezerros bubalinos com diarreia induzida por *Salmonella Typhimurium* do período antes da inoculação até o sétimo de dia de diarreia.

Segundo Reece (1996) há uma relação inversamente proporcional entre a concentração sérica do cloro e a taxa de reabsorção renal de íons bicarbonato para atender os princípios da eletroneutralidade durante a reabsorção do sódio. Logo, os níveis séricos de bicarbonato reduzidos, devido às constantes e elevadas perdas deste íon nas fezes e pela sua utilização como sistema tampão, induz o organismo a reter mais o cloro, para garantir a eletroneutralidade de acordo com a teoria dos íons fortes (DiBartola, 2012).

Tabela 12: Comportamento dos eletrólitos (Na⁺, Cl⁻, K⁺) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).

Eletrólito	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Sódio mEq/L	Grupo 1	139,2	117,33	123,62	103,17	117,67	116,5	119,27B		25,07
	Grupo 2	139,42	131,86	140,12	120,62	119,71	129,71	130,25A	17,81	24,75
Cloro mEq/L	Grupo 1	95,5	99,42	94,57	97,6	91,28	98	95,95		7,45
	Grupo 2	92,25	92,78	96,56	94,33	97,57	98	95,1		7,34
	Média	93,64	95,69	95,69	955	94,43	98	95,47	6,28	7,36
Potássio mEq/L	Grupo 1	4,62	4,15	4,54	3,55	4,32	3,77	4,16B		1,04
	Grupo 2	4,66	4,96	4,99	4,64	4,28	4,84	4,73A	30,59	0,97

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05). Ns, P>0,05. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão.

Comportamento cálcio, magnésio e fósforo

O comportamento do cálcio (tabela 13) foi semelhante nos dois grupos, independente da quantidade de sucedâneo que receberam. No grupo 1 (4 litros) e no grupo 2 (6 litros), a concentração de cálcio começou a diminuir (p<0,01) no primeiro dia de diarreia, caiu ainda mais no segundo (p<0,01) e ficou abaixo dos valores de referência (9,7-12,4 mEq/l) no sétimo dia. Independentemente do mecanismo da diarreia, esta acarreta elevação das perdas de eletrólitos nas fezes, como cálcio, sódio, potássio, cloro e bicarbonato (Argenzio, 1985; Constable et al., 1996; Naylor, 1999). Outro fator que deve ser destacado é que, apesar dos bezerros terem sido hidratados no período da diarreia, o soro não apresentava nenhum componente com

cálcio na sua formulação, e não houve, portanto, reposição das perdas.

A concentração do magnésio (tabela 13) não variou durante os dias de diarreia e entre os grupos. No entanto, os valores de magnésio de ambos os grupos se encontraram maiores que o valor de referência (1,8-2,3 mg/dL) (Carlson, 1997; Radostits et al., 2007; Kaneko et al., 2008). Slanina et al. (1984) e Silva (2007) constataram redução da concentração de magnésio em bezerros com diarreia.

O fósforo sérico não variou durante os dias de diarreia e entre os grupos (tabela 13). Os valores ficaram dentro da referência em bezerros. De acordo com Rocha et al.(2009), os valores séricos de fósforo oscilaram entre 7,26±0,9 mg/dL e 9,69±0,6 em bezerros holandeses normais.

Tabela 13: Comportamento dos eletrólitos (cálcio, fósforo e magnésio) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).

Eletrólito	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Cálcio mg/dL	Grupo 1	12,35	10,87	10,1	10,23	10	9,2	10,4		1,51
	Grupo 2	11,4	11,43	10,76	10,98	10	10	10,9		1,82
	Média	11,74a	11,21b	10,47c	10,68c	10,13c	9,61c	10,7	4,2	1,71
Fósforo mg/dL	Grupo 1	10,17	12,6	10,28	11,87	11	11	11,1		2,53
	Grupo 2	9,93	10,14	10,64	10,12	10	10	10,2		1,71
	Média	10,03	11,21	10,48	10,74	10	11	10,6	18,7	2,15
Magnésio mg/dL	Grupo 1	2,67	3,24	2,97	3,02	3	3	2,94		0,57
	Grupo 2	2,47	2,74	2,78	2,83	3	2,5	2,66		0,4
	Média	2,56	2,96	2,86	2,9	3	2,7	2,78	15	0,5

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão.

Comportamento do lactato

O lactato sérico (tabela 14) variou ($p < 0,05$) entre os momentos da diarreia e apresentou comportamento semelhante entre os grupos. O lactato foi menor nos dias 2 e 3 da diarreia.

Freitas (2009) avaliou a concentração de lactato em bezerras híidas e diarreicas sem tratamento e encontrou valores de 1,4 e 2,4 mmol/L e 2,0 e 3,2 mmol/L, respectivamente. Diferente de Freitas (2009), os bezerros foram hidratados na diarreia, determinando maior controle do lactato sanguíneo.

Tabela 14: Comportamento do lactato em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).

Metabólito	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Lactato (mmol/L)	Grupo 1	1,99a	1,72a	1,36b	1,34b	1,69a	1,45a	1,59		8,13
	Grupo 2	1,9a	1,73a	1,16b	1,34b	2,40a	2,54a	1,85	21,12	12,58

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão.

Comportamento das enzimas hepáticas

Lactato desidrogenase (LDH)

A concentração de LDH diminuiu ($p < 0,01$) no período da diarreia e foi maior ($p < 0,01$) no grupo 1 (tabela 15). A enzima LDH é encontrada em concentrações relativamente alta em diversos órgãos e tecidos corpóreos, desde coração, fígado, músculos e rins, passado por eritrócitos e leucócitos. Zarrilli et al (2003) demonstrou que a concentração de LDH é alta em colostro (832 ± 124 U/L). Portanto, a diminuição do LDH durante a diarreia que ocorreu em ambos os grupos, pode ter sido devido à degradação da enzima vinda do colostro (Zarrilli et al, 2003). O grupo 1 apresentou maior valor, pois a ingestão de sucedâneo foi menor durante a diarreia que sugere maior grau de desidratação, levando a maior concentração do LDH no soro.

Aspartato aminotransferase (AST)

Não foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$) na concentração de AST (tabela 15) entre os grupos e entre os momentos da diarreia (tabela 12). Santos et al. (2002) e Silva (2007) também não encontraram diferença estatística de AST em bezerros com diarreia induzida por Salmonelose. Sobiech e Kuleta (2006) observaram aumento na atividade da enzima AST, comparando grupos de bezerros saudáveis com bezerros com sintomas de inflamação crônica no trato gastrointestinal, sugerindo ocorrência de lesão hepática. Portanto, independente do volume de sucedâneo ingerido, o período estudado de diarreia (um a sete dias) pode ter sido curto para poder identificar possíveis danos nos hepatócitos.

Alanina aminotransferase (ALT)

A concentração sérica de ALT (tabela 15) não apresentou diferença ($p > 0,05$) entre grupos e nos dias da diarreia. O ALT apresentou-se dentro dos valores de

referência no período da diarreia. A enzima ALT é comumente usada para avaliar lesão hepatocelular em pequenos animais, no entanto, a atividade dessa enzima é muito baixa e menos específica em ruminantes (Lechtenberg et al, 1991).

Gamaglutamiltransferase (GGT)

Os valores de GGT (tabela 15) diminuíram ($p < 0,05$) durante a diarreia, o primeiro e segundo dia de diarreia foram menores que o dia 0 e os dias 3, 5 e 7 tiveram os menores valores. No grupo 2, a concentração de GGT foi maior ($p < 0,01$). A gamaglutamiltransferase (GGT) é uma enzima hepática e está presente em concentração elevada no colostro dos bovinos, sendo absorvida em grande quantidade pelas células intestinais dos bezerros recém-nascidos (Braun et al. 1982, Fagliari et al. 1996, Zanker et al. 2001). A diminuição do GGT durante a diarreia pode ser explicada pela degradação do GGT colostrado com o decorrer dos dias no período neonatal (Thompson e Pauli, 1981, Silva, 2007, Feitosa et al, 2009).

Fosfatase alcalina (ALP)

Foi observada maior concentração de fosfatase alcalina (tabela 15) nos dias 1, 2 e 3 em relação aos dias 0, 5 e 7 de diarreia e diferença entre grupo ($p < 0,01$). A atividade da ALP é maior em animais jovens, devido a elevada atividade osteoblástica (Keller, 1981; Kerr, 2002). No entanto, a diarreia neonatal causa diminuição da conversão alimentar e retardo no crescimento (Langoni et al., 2004). No início da diarreia, a ALP foi mais alta, mas diminuiu com evolução da diarreia e com a queda do cálcio, indicando menor atividade osteoblástica. Silva (2009) encontrou menor concentração de ALP em bezerros com diarreia induzida em relação ao grupo controle. Contudo, Lechowski (1996) e Sobiech e Kuleta (2006) relataram aumento da atividade da enzima ALP nos bezerros com diarreia, indicando alteração da função

hepática. No presente trabalho, a ausência do aumento de outras enzimas mais específicas de função hepática, reforça a ausência de lesões hepáticas. Outro fator que pode ter contribuído para o declínio da ALP durante o curso da diarreia é a degradação dessa enzima de origem colostrar, conforme observado por Zarrilli et al (2003) em cabras.

Não foi verificada diferença ($p>0,05$) da atividade da bilirrubina total (tabela 15) entre grupos e nos dias de diarreia. Santos et al. (2002a) observaram aumento significativo da concentração da bilirrubina total entre 48 e 72 horas pós-inoculação dos bezerros com *S. Typhimurium*. No entanto, Fagliari et al. (1998) observaram concentrações mais elevadas em bezerros jovens com diminuição em função da idade em bezerros saudáveis. Ruminantes com doença hepática pode ter hiperbilirrubinemia moderada, no entanto, isto é algo incomum (Thrall, 2004).

Bilirrubina total

Tabela 15: Comportamento das enzimas hepáticas (AST, ALT, LDH, GGT, fosfatase alcalina e bilirrubina total) durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).

Enzima	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
AST (U/L)	Grupo 1	57,43	57,49	54,28	53,67	52,5	63,67	56,49		17,01
	Grupo 2	56	50,37	50,23	51,23	51	50,43	51,63		12,02
	Média	56,62	53,67	52	52,2	51,69	56,53	53,78	7,19	14,56
ALT (U/L)	Grupo 1	49,71	45,28	43,14	41,67	33,83	29,33	40,92		18,74
	Grupo 2	42,11	35,86	37,22	39,22	34,57	34,28	37,47		10,3
	Média	45,44	40,27	39,81	40,2	34,23	32	39	9	14,66
LDH (U/L)	Grupo 1	447,5a	483a	469,71a	412,33b	395,33b	393,5b	435,81A		82,61
	Grupo 2	458a	431,5a	428,78a	394,22b	342,71b	337,86b	402,96B	12,88	84,23
GGT (U/L)	Grupo 1	217,83a	151,57b	135,57b	118,17c	104,50c	72,33c	133,87B		100
	Grupo 2	318,89a	211,37b	212,89b	138,33c	105,14c	72,43c	182,96A	28,83	146,7
Fosfatase alcalina	Grupo 1	254,67b	340,71a	318,57a	307a	263,43b	228,33b	286,63A		99,56
	Grupo 2	205,25b	233,33a	232,44a	189,7a	192b	167,57b	205,27B	26,68	79,34
Bilirrubina total (mg/dL)	Grupo 1	1,19	1,04	1,57	1,6	1,73	1,08	1,39		0,59
	Grupo 2	1,75	1,7	1,62	1,57	1,69	1,48	1,63		0,41
	Média	1,49	1,46	1,6	1,58	1,72	1,3	1,53	30,59	0,51

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$). Ns, $P>0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão.

Comportamento renal

Uréia

A concentração da uréia (tabela 16) foi maior ($p < 0,01$) no grupo 1 e não variou entre os dias de diarreia. Nos rins, a uréia é filtrada através dos glomérulos e difunde passivamente para fora dos túbulos, a uma taxa que depende da taxa de fluxo de urina através dos túbulos. O resto do filtrado da uréia é excretado na urina. A taxa de reabsorção da uréia é inversamente relacionada com a taxa de fluxo de urina através dos túbulos, ou seja, na desidratação a quantidade de uréia reabsorvida é maior (Monke et al., 1998). O grupo 1 ingeriu menor quantidade de sucedâneo do que o grupo 2, logo o grau de desidratação pode ter sido maior, devido à hemoconcentração e aos processos catabólicos em consequência da desidratação, que reduziram o fluxo sanguíneo renal (Bouda et al., 1997).

Creatinina

A concentração da creatinina (tabela 16) foi maior ($p < 0,01$) no grupo 1 e não variou entre os dias de diarreia. A creatinina é liberada da musculatura esquelética em concentração mais ou menos constante, já que é reflexo da massa muscular, a qual não se altera rapidamente (Radostits et al., 2007). Além disso, a creatina é filtrada livremente através dos glomérulos, excretados pelos rins e uma pequena fração é reabsorvida ou secretada em túbulos (Monke, 1998). El-sheikh et al. (2012) observaram aumento da creatinina em bezerras com diarreia severa e moderada. O grupo 1 consumiu menor quantidade de sucedâneo do que o grupo 2 durante a diarreia, isso pode ter influenciado no grau de desidratação, diminuindo a eliminação da creatinina na urina.

Tabela 16: Comportamento da albumina e proteína total (PT) durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L)

Metabólito	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Uréia (mg/dL)	Grupo 1	14,67	25,57	30,43	27,8	29	13,33	23,74A		20,54
	Grupo 2	14,75	13,44	13	19,78	18,28	19,57	16,31B	26,30	8,59
Creatinina (mg/dL)	Grupo 1	1,03b	1,95a	1,68a	1,67a	1,47a	1,08b	1,49A		0,65
	Grupo 2	0,89b	0,99a	1,09a	1,44a	1,15a	1,2b	1,13B	18,36	0,47

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

Comportamento albumina e proteína total

Albumina

A concentração da albumina (tabela 17) foi maior ($p < 0,01$) no grupo 1. No período da diarreia, aumentou no dia 1 da diarreia em relação ao tempo 0, mantendo-se este aumento até o dia 7. Com a menor ingestão

de leite durante a diarreia, a desidratação foi maior, concentrando a albumina no soro. Santos et al. (2002a) observaram diminuição significativa da concentração sérica da albumina após a inoculação experimental de bezerras com *S. Typhimurium*. A causa mais importante de hiperalbuminemia é a desidratação. As concentrações de albumina e globulina, quando excedem o intervalo de referência,

pode também determinar o grau de desidratação (Roussel et al., 1982).

Proteína total

Foi encontrada diferença ($p < 0,01$) somente entre grupos. A proteína total sérica (tabela 17) foi maior no grupo 1, logo teve o mesmo comportamento da albumina, uma vez que a albumina representa cerca de 35 a 50% do total das proteínas séricas (Kaneko et al., 1997). El-sheikh et al. (2012) também observaram aumento da proteína

total em bezerros com diarreia induzida. O aumento da proteína total pode ser atribuído à perda de fluidos corporais e concentração de alguns componentes do sangue (Scott et al., 2004). Logo, o grupo que apresentou diminuição de consumo de sucedâneo durante a diarreia, foi verificado menor concentração de proteína total. Esta diferença entre grupos pode ser explicada também pelo catabolismo protéico durante a evolução da diarreia, uma vez que a ureia é gerada no fígado para desintoxicar um subproduto do catabolismo de proteínas, a amônia, portanto, também influenciado pela dieta (Monke et al, 1998).

Tabela 17: Comportamento da albumina e proteína total (PT) durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L)

	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Albumina (g/dL)	Grupo 1	2,41b	2,84a	2,78a	2,6a	2,66a	2,55a	2,65A		0,43
	Grupo 2	2,27b	2,28a	2,35a	2,35a	2,47a	2,4a	2,35B	8,77	0,22
Proteína Total	Grupo 1	6,56	6,23	7,1	6,3	6,48	6,68	6,56A		0,96
	Grupo 2	6,2	6	6,42	6,09	6,06	5,81	6,11B	10,93	0,75

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

Comportamento da glicose

Foi encontrada diferença ($p < 0,01$) entre os dias de diarreia e houve interação ($p < 0,01$) entre dia de diarreia e grupo (tabela 18). A glicemia foi menor nos dias 3, 5 e 7 da diarreia em ambos os grupos. Nas diarreias naturais, a anorexia ocorre devido à depressão do animal, à própria patogenia das diarreias e provoca má digestão e absorção, podendo levar o animal a um quadro de hipoglicemia (Bouda et al., 1997; Kaneko et al., 2008). A glicemia no grupo 2 foi maior do que no grupo 1 a partir do dia 3 de diarreia e nos dias 3, 5 e 7 de diarreia do grupo 1, apresentaram valores menores

que os valores de referência (72-87 mg/dL) estabelecidos. Isso pode ser explicado, pois antes da diarreia, o consumo de sucedâneo foi o mesmo nos dois grupos e durante a diarreia, a ingestão de sucedâneo foi maior no grupo 2. Santos et al. (2002) observaram redução significativa na concentração de glicose nos bezerros com diarreia induzida por *Salmonella* 48 horas após a infecção experimental. Freitas (2009) observou hipoglicemia em 66% e 80% das bezerras no terceiro e quinto dia de diarreia respectivamente.

Tabela 18: Comportamento da glicose durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 1 (4L) e 2 (6 L).

	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)					MT	CV	DP
		0	1	2	3	5			
Glicose	Grupo 1	93,63Aa	85,38Ab	66,13Bc	58,58Bf	64,29Bd	63,53Be	71,46	18,72
	Grupo 2	82,38Ab	79,78Bc	82,54Aa	75,96Ad	75,26Ae	64,72Af	77,47	16,51

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

5.3. Avaliação da frequência dos enteropatógenos e suas associações em bezerros ingerindo diferentes volumes de sucedâneo (4 litros x 6 litros)

Neste trabalho, foi realizada a pesquisa de seis enteropatógenos: *Cryptosporidium* spp., *Rotavirus*, *Eimeria* spp, *Giardia duodenallis*, *E. coli* e seus patótipos e *Salmonella* spp. Com exceção da *Eimeria*, todos os agentes foram identificados nos grupos 1 (oferecido 4 litros de sucedâneo) e 2 (oferecido 6 litros de sucedâneo) durante os episódios de diarreia.

Para a realização das análises estatísticas, considerou-se o número total de amostras de fezes positivas ou negativas para cada agente. Desta forma, foram examinadas 28 e 32 amostras, respectivamente nos grupos 1 e 2, oriundas de quatro momentos de coleta. Não foi observada diferença

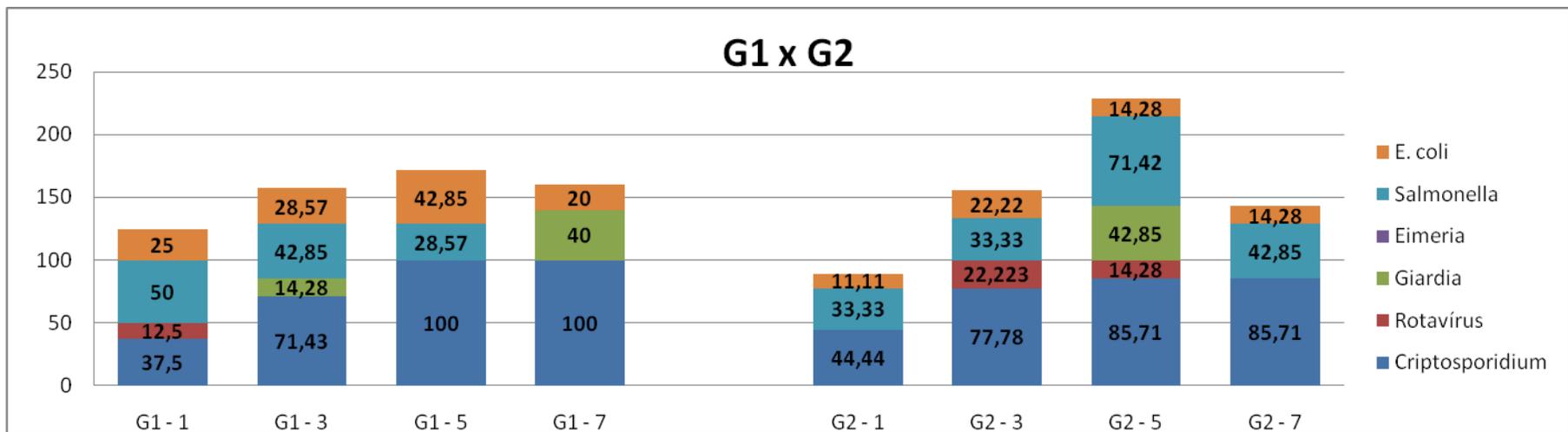
estatística ($p > 0,05$) da frequência das amostras positivas para cada agente entre os grupos 1 e 2 (4L x 6L) (tabela 19). Isso significa que o volume de sucedâneo não interferiu na frequência dos agentes. Os animais ficaram em uma área reduzida, em um ambiente com umidade elevada, muita matéria orgânica durante um período de alta pluviosidade e temperatura elevada. Foi observada também a presença de grande número de pássaros atraídos pela ração nos baldes, que poderiam funcionar como vetores mecânicos, favorecendo a dispersão dos patógenos. Isso contribuiu para maior dispersão e exposição dos animais aos agentes, uma vez que a via principal de infecção dos agentes estudados é oral-fecal, o ambiente influencia na ocorrência dos enteropatógenos (Radostits et al, 2007) Vários autores destacam que a diarreia é resultado da interação entre o bezerro, ambiente, nutrição e agentes infecciosos (Hall et al., 1992; Radostits et al., 2007).

Tabela 19: Frequência (%) de animais e amostras positivas por enteropatógeno no grupo 1 (4 litros de sucedâneo) e 2 (6 litros de sucedâneo)

Agentes	Grupo 1		Grupo 2	
	Animais positivos % n= 8	Amostras positivas % n= 28	Animais positivos % n= 9	Amostras positivas % n= 32
<i>Cryptosporidium</i>	100,0	75,0	100,0	71,9
<i>Rotavirus</i>	12,5	3,5	22,2	6,2
<i>Eimeria</i>	0,0	-	0,0	-
<i>Giardia</i>	37,5	10,7	33,3	9,4
<i>E. Coli</i>	75,0	28,5	22,5	15,6
<i>Salmonella spp.</i>	50,0	28,5	66,6	43,7

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste Exato de Fisher (p<0,05).

Gráfico 1 - Frequência (%) de amostras positivas no período da diarreia (1, 3, 5 e 7) para cada agente etiológico no grupo 1 (4 l) e 2(6 l)

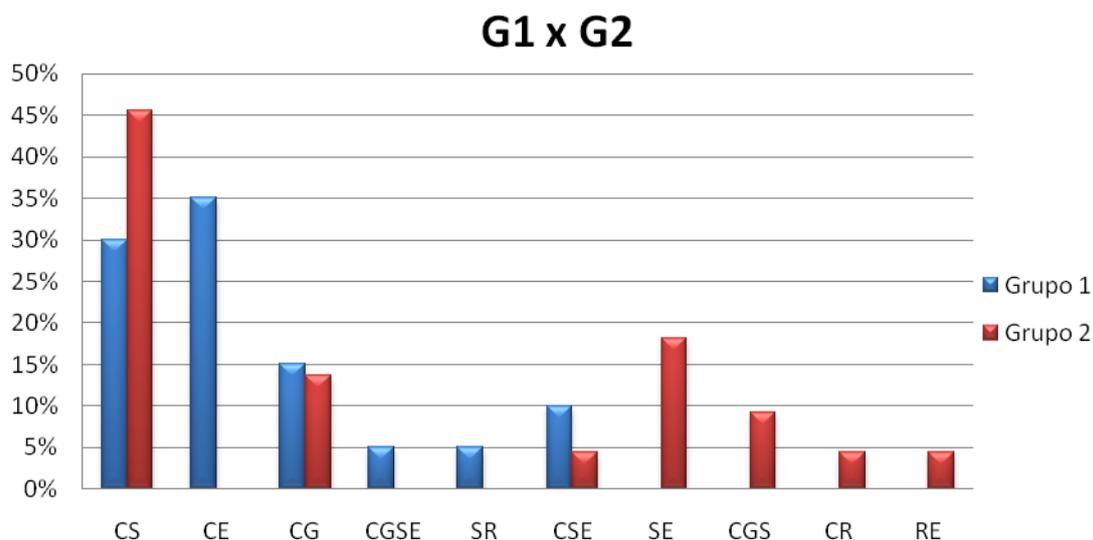


O *Cryptosporidium* spp. foi o agente de maior frequência, sendo encontrado em todos os animais dos dois grupos e em todos os momentos da diarreia (tabela 19). No grupo 1, o *Cryptosporidium* foi encontrado em 100% dos bezerros e em 75% (21/28) das amostras. Foram positivos para *Cryptosporidium* 37,5% (3/8), 71,43% (5/7), 100% (7/7) e 100% (7/7) dos bezerros, nos dias 1, 3, 5 e 7 de diarreia, respectivamente (gráfico 1). No grupo 2, a frequência de amostras positivas foi de 71,9% (23/32), e durante os dias de diarreia foi 44,44% (4/9), 77,78% (7/9), 85,71% (6/7) e 85,71% (6/7) nos dias 1, 3, 5 e 7, respectivamente (gráfico 1). A média de início da diarreia foi 5,87 dias do grupo 1 e 5,11 do grupo 2, logo o período pré-patente da criptosporidiose de três a seis dias correspondeu com o resultado encontrado (Fayer et al., 1998). Ferreira (2009) observou prevalência de 9,2% do agente em amostras de fezes normais e diarreicas de bezerros entre 5 e 60 dias, utilizando kit de

ELISA para o diagnóstico. Batista (2005) utilizou o mesmo kit e encontrou prevalência de 68%, porém todas as amostras processadas foram de fezes diarreicas de bezerros com 7-14 dias de idade. O diagnóstico de *Cryptosporidium* apresenta maior frequência em bezerros de 1 a 3 semanas e existe correlação entre o diagnóstico do agente e a diarreia (Ortolani e Soares, 2003).

A associação de *Cryptosporidium* com outros agentes foi observada em 61,9% (13/21) das amostras positivas para *Cryptosporidium*, sendo a associação com *E. coli* a mais frequente (30%) no grupo 1 e com *Salmonella* spp. (45,5%) no grupo 2 (gráfico 2). A alta frequência de associação do *Cryptosporidium* com agentes bacterianos pode ter ocorrido, devido às condições do ambiente com alta umidade e muita matéria orgânica, favorecendo a manutenção de alta carga infecciosa bacteriana.

Gráfico 2 - Frequência das associações das infecções entéricas do grupo 1 (4L) e 2 (6L)



C- *Cryptosporidium*, S- *Salmonella*, E- *E. coli*, G- *Giardia*, R- *Rotavirus*

Patotipos de *E. coli* (amostras com gene de virulência) foram identificados em 75% dos animais e 28,5% das amostras de fezes do G1 e em 22,5% dos animais e 15,6% das amostras do G2 (tabela 19). A *E. coli* (gráfico 1) foi encontrada em todos os dias avaliados nos dois grupos e apresentou a maior frequência no dia 5 no grupo 1 (42,85%) e no dia 3 no grupo 2 (22,22%). Ferreira (2009) observou 90,22% de bezerras positivas para *E. coli*, no entanto, não encontrou nenhuma amostra com gene de virulência, utilizando o Kit ELISA que é capaz de identificar apenas *E. coli* F5. Enquanto Coura (2011) encontrou 96 amostras com genes de virulência do total de 850 amostras positivas para *E. coli* pela técnica de PCR multiplex. Estes dados indicam que a diversidade da literatura pode estar relacionada não só com as condições de saúde e ambiente, mas também com o método de diagnóstico utilizado.

No grupo 1, (gráfico 2) a associação mais frequente com os patotipos de *E. coli* foi com o *Cryptosporidium* (35% - 7/20) enquanto, no grupo 2, foi com a *Salmonella* (18,2% - 4/22) (gráfico 3). Coura (2011) encontrou 6 amostras positivas de *E. coli* com genes de virulência associadas com *Rotavirus* e *Coronavírus*. Gomez et al (2006) encontraram *E. coli* patogênica associada ao *Enterobacter* sp (20,4%), *S. Dublin* (11,4%) e *Pseudomonas* sp (11,4%). Esses achados demonstram a importância da associação de enteropatógenos em fezes diarreicas e normais, mostrando a complexidade etiológica da síndrome diarreica em bezerras.

Das amostras positivas para patotipos de *E. coli* do grupo 1, três amostras foram classificadas como *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), três como *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC), uma como *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) e uma como *Escherichia coli* produtoras de Shiga toxinas 1 e/ou 2 (STEC). O bezerro positivo

para ETEC foi o animal mais jovem do grupo a apresentar diarreia (3 dias). *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) ocorre comumente em animais com menos de três dias de idade, mas ocasionalmente pode ocorrer em animais mais velhos, principalmente se houver infecção viral concomitante. Estudos epidemiológicos com bezerros leiteiros e de corte mostraram que mais de 80% dos casos de diarreia associada à ETEC ocorrem em animais com menos de quatro dias de idade (Radostits et al., 2007). Após a ingestão do ETEC, a toxina se liga em receptores nos enterócitos. Em ratos e humanos, foi relatada a diminuição destes receptores após o nascimento, logo a presença destes receptores no trato gastrointestinal de recém nascidos, pode ser um motivo para a diarreia ocorrer precocemente (Krause et al, 1994; Al-Majali et al, 2000).

O grupo 2 apresentou 5 amostras positivas para patotipos de *E. coli*, duas foram classificadas como EHEC, uma como EPEC, uma como ETEC e STEC e uma somente como ETEC. O bezerro que apresentou diarreia mais precoce (dois dias) foi o que apresentou ETEC e STEC, corroborando o que foi afirmado na literatura.

A *Salmonella* apresentou alta frequência neste estudo, sendo diagnosticada em 50% dos animais do G1 e 66% do G2. Este agente foi diagnosticado em 22,5% (8/28) das amostras fecais e 43,7% (14/32) nos grupos 1 e 2, respectivamente (tabela 16). No grupo 1, a *Salmonella* esteve presente nos dias 1 (50% - 4/8), 3 (42,85% - 3/7) e 5 (28,57% - 2/7) e no grupo 2, nos dias 1 (33,33% - 3/9), 3 (33,33% - 3/9), 5 (71,42% - 5/7) e 7 (42,85% - 3/7) (gráfico 1). A associação mais relevante (gráfico 2), tanto para o grupo 1 (30% - 6/20) quanto para o grupo 2 (45,5% - 20/22), foi com o *Cryptosporidium*. Costa et al (1979) encontraram prevalência de 9% de *Salmonella* em fezes diarreicas de bezerras

de 0 a 60 dias, resultado semelhante ao de Langoni et al (2004) , porém em bezerros de 0 a 30 dias. Ferreira (2009) e Oliveira Filho (2007) observaram ausência do isolamento da bactéria. Esta divergência de resultados pode ser justificada pela diferença da idade dos bezerros estudados, uma vez que a infecção é mais comum na primeira semana de vida e os sinais clínicos são observados entre duas e seis semanas de idade (Wray e Davies, 2000; Barrow et al, 2010). Outro fator que influencia no isolamento da *Salmonella* é o intervalo entre a coleta e o processamento do material (Urquhart et al., 1998; Bowman, 2006).

As amostras positivas de *Salmonella* foram classificadas quanto ao sorotipo. Das nove (100%) amostras positivas do grupo 1, três foram classificadas como *Salmonella* Muenster (33,33%), uma como *Salmonella* Infantis (11,11%) e cinco tiveram infecção mista por *Salmonella* Muenster e *Salmonella* Infantis (55,55%). O comportamento quanto ao sorotipo encontrado foi semelhante no grupo 2. Das 14 (100%) amostras positivas, 7 foram *Salmonella* Muenster (50%), 3 (21,42%) *Salmonella* Infantis e 4 (28,57%) apresentaram ambos os sorotipos. Apesar de não ser conhecida como principal causa de salmonelose em bovino de acordo com Radostitis (1994), neste trabalho a *Salmonella* Muenster foi predominante nos dois grupos. No Canadá, Mc Ewen (1988), encontrou este sorotipo em 2,9% em amostras de leite cru. Na Finlândia, a *Salmonella* infantis foi o sorotipo mais encontrado entre os animais e a terceira causa mais comum de salmonelose humana e em animais (Pelkonen, 1994). No Brasil, no estado de Pernambuco, Mendonça et al (1996) encontraram 4,7% de bezerros positivos para *Salmonella*, sorotipos Dublin, Muechen e Infantis. Isso demonstra que são necessários mais estudos para esclarecer a epidemiologia da *Salmonella* Muenster e Infantis no nosso meio, devido

a sua presença e por ser uma bactéria que tem demonstrado a sua patogenicidade.

O *Rotavirus* foi identificado em 12,5% (1/8) dos animais do grupo 1 e em 22,23% (2/9) (tabela 19). O grupo 1 apresentou o vírus apenas no primeiro dia de diarreia (1/8 – 12,5%) e o grupo 2 no terceiro dia de diarreia (2/9 – 22,23%) (gráfico 1). Em São Paulo, Buzinaro et al (2003) encontraram prevalência desse agente em 63,8% de amostras de bezerros diarreicos. Em Minas Gerais, Batista (2005) verificou prevalência de 31,8% de *Rotavirus* em bezerros diarreicos de uma a duas semanas de idade. Coura (2011), no mesmo estado, observou incidência de bezerros de 0 a 60 dias de 5,76 % do *Rotavirus*, sendo que 69% das amostras foram de bezerros diarreicos. Foi observado também por Coura (2011) que os bezerros excretaram o vírus por no máximo três dias consecutivos, principalmente na segunda e terceira semanas de vida e existia uma relação entre o quadro de diarreia e a excreção do Rotavirus. Reynolds et al. (1985) trabalhando com bezerros naturalmente infectados, demonstraram que 83% dos animais excretaram *Rotavirus* nas fezes em média por 3,6 dias e cerca de 50% dos bezerros infectados não apresentaram sinais clínicos durante o período experimental. A patogênese do *Rotavirus* depende da sua virulência e da idade do bezerro, pois bezerros neonatos possuem lenta reposição de enterócitos, células onde o vírus se replica, ficando mais suscetível à doença (Dodet et al., 1997). Mayameei et al. (2010) sugerem que a ocorrência de rotavirose é maior na terceira semana, devido aos anticorpos colostrais e a imunidade local presente principalmente na primeira semana e um pouco na segunda, diminuindo a frequência de diarreia por rotavirose neste período.

No grupo 1, o Rotavirus foi encontrado associado à *Salmonella* (gráfico 2) apenas em um animal e no grupo 2 associado a *Cryptosporidium*, também em um

indivíduo. Barbosa et al. (1998), García et al. (2000), Langoni et al. (2004) e Batista (2005) encontraram associação de *Rotavirus* e *Cryptosporidium* spp. em 3,6%, 85,2%, 17,7% e 9,1% das amostras respectivamente.

A eimeriose não foi identificada em nenhum dos animais do grupo 1 e do grupo 2 (tabela 19). Apesar da ração dos bezerros apresentar coccidiostático na sua composição, o consumo de ração durante o primeiro mês é baixo (Silper, 2012). A *Eimeria* é um importante agente causador de diarreia em bezerros, os períodos pré-patentes das principais espécies de *Eimeria* são: *Eimeria bovis* (15-20 dias), *Eimeria zuernii* (15-17 dias), *Eimeria alabamensis* (6-11 dias), *Eimeria auburnensis* (18-20 dias), *Eimeria bukidnonensis* (10 dias), *Eimeria cylindrica* (20 dias) e *Eimeria ellipsoidalis* (8-13 dias) (Levine, 1973). Portanto, a ausência do agente no experimento, deve-se ao fato de que os animais não terem atingido a idade posterior ao período pré patente no período estudado.

A infecção por *Giardia* foi diagnosticada em poucos animais (37,5% no G1 e 33,3% no G2). A frequência nas amostras fecais foi 10,7 e 9,4% nos grupos 1 e 2, respectivamente, no período da diarreia (tabela 1). A frequência do agente no grupo 1 foi 0%, 14,28% (1/7), 0% e 40% (2/6) nos dias 1, 3, 5 e 7 de diarreia (gráfico 1). No grupo 2 foi encontrado cistos de *Giardia* apenas no dia 5 de diarreia com uma frequência de 42,85% (3/7) neste dia. Em 15% (3/20) das associações (gráfico 2) foi observada associação entre *Giardia* e *Cryptosporidium* no grupo 1 e em um bezerro apresentou simultaneamente *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Salmonella* e *E. coli*. No grupo 2, ocorreu associação da *Giardia* com o *Cryptosporidium* em 13,6% (3/22) dos agentes associados e de 9,2% (2/22) da associação *Cryptosporidium*, *Giardia* e *Salmonella*. Guimaraes et al.

(2009) encontraram incidência de 100% em bezerros de 0 a 100 dias em um estudo longitudinal e observou que a eliminação de cistos de *Giardia* mais precoce foi no décimo sétimo dia de vida e não estava relacionado com a ocorrência de diarreia. Na Austrália, Becher et al. (2004) observaram maior prevalência em bezerros de 4-7 semanas de idade e foi detectado em 89% dos animais estudado. A frequência da infecção por *Giardia* no presente trabalho foi baixa, possivelmente devido à idade dos animais, uma vez que, geralmente, a maior prevalência é observada em animais com a idade de 3-5 semanas (Quilez et al., 1996). Por outro lado, a presença desse parasito em bezerros na segunda semana de vida no presente experimento é indicativa de uma alta pressão de infecção ambiental. Vale a pena destacar que o bezerreiro onde foi realizado o experimento, situava-se dentro do hospital veterinário da UFMG e é sabido que o diagnóstico de *Giardia* é freqüente em cães atendidos nesse hospital.

6. Conclusões

1. O volume de sucedâneo oferecido aos bezerros interfere com o volume de sucedâneo ingerido durante o curso da diarreia.
2. Bezerros que recebem maior quantidade de sucedâneo mantêm estáveis e em níveis mais elevados as concentrações sanguíneas de sódio e potássio durante a diarreia.
3. A diarreia causa diminuição das concentrações sanguíneas de cálcio em bezerros neonatos.
4. A atividade das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP) diminuem com o avanço da idade em bezerros neonatos.

5. A diminuição da ingestão de sucedâneo durante a diarreia contribui para a desidratação do animal.
6. Bezerros neonatos com diarreia apresentam queda da glicemia com o avanço do quadro diarréico. A glicemia é influenciada pelo volume de leite ingerido por bezerros neonatos.
7. Durante o período de patência da diarreia neonatal de bezerros, vários enteropatógenos podem ser identificados, ocorrendo na maioria das vezes, de forma associada.
8. Na situação estudada, o *Cryptosporidium* foi o agente mais importante e sua associação com as bactérias *Salmonella* e *E. coli* foram muito freqüentes.

7. Considerações finais

Os resultados do presente trabalho demonstraram que durante o período de patência da diarreia neonatal de bezerros, vários enteropatógenos podem ser identificados, ocorrendo na maioria das vezes, de forma associada, dependendo da interação com meio.

8. Experimento II - Avaliação da influência do tratamento das diarreias em bezerros com anti-inflamatório e antibiótico sobre os parâmetros eletrolíticos, bioquímicos e etiológicos

8.1. Análises bioquímicas

Comportamento sódio, cloro e potássio

Não houve diferença na concentração do sódio, cloreto e potássio ($p > 0,05$) no período da diarreia e entre os grupos (tabela 20). Isso ocorreu, pois no período da diarreia, apesar das perdas desse eletrólito nas fezes (Argenzio, 1985; Constable et al., 1996; Naylor, 1999), a hidratação e o consumo de leite, foram capazes de repor as perdas. A medicação do grupo 3 com enrofloxacin e flunixin meglumine não influenciou na concentração desses eletrólitos. Clemente et al. (2011) também não encontraram variações nas concentrações de sódio e cloro no período de 0 a 7 dias de diarreia induzida por *Salmonella* Typhimurium em bezerros bubalinos. Por outro lado, hiponatremia foi relatada por Silva e Fagliari (2010) em bezerros bovinos inoculados com *Salmonella* Dublin e Freitas (2009), em bezerras com diarreia naturalmente adquirida. A manutenção de concentrações normais de cloro em bezerros com diarreia é relatada em vários trabalhos (Santos et al., 2002; Silva, 2007; Freitas, 2009; Silva e

Fagliari, 2010), mesmo sem a utilização de fluidoterapia.

Segundo Reece (1996) há relação inversamente proporcional entre a concentração sérica e a taxa de reabsorção renal de íons bicarbonato para atender os princípios da eletroneutralidade, durante a reabsorção do sódio. Logo, com as concentrações séricas de bicarbonato reduzidas, devido à elevada perda deste íon nas fezes e pelo sistema tampão, ocorre indução do organismo para reter mais o cloro e facilitar a reabsorção renal do sódio (Freitas, 2009).

Nos animais diarreicos, o potássio também é perdido extensivamente nas fezes, portanto, espera-se encontrar concentrações sanguíneas diminuídas quando não há tratamento com fluidoterapia. Por outro lado, se o animal diarreico desenvolve acidose metabólica, pode ocorrer a troca dos íons hidrogênio do meio extracelular pelo potássio do intracelular (Tennant et al., 1972; Freitas, 2009). Quando isso ocorre há aumento relativo das concentrações sanguíneas de potássio (Freitas, 2009). Assim, a manutenção das concentrações constantes de potássio nos animais diarreicos, refletiu a eficiência da fluidoterapia oral empregada, garantindo a reposição desse eletrólito e o controle da acidose metabólica. Estes efeitos foram comprovados por Ferreira (2001), utilizando o mesmo protocolo de fluidoterapia aplicado neste experimento.

Tabela 20: Comportamento dos eletrólitos (Na⁺, Cl⁻, K⁺, Ca⁺, P⁻ e Mg⁺) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)

Eletrólito	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Sódio mEq/L	Grupo 2	139,43	131,85	140,12	120,62	119,71	129,71	130,25		24,75
	Grupo 3	142,2	144,8	135	131,4	142,4	155,6	141,9		23,25
	Média	140,58	137,25	138,15	124,77	129,17	140,5	134,97	16,92	24,67
Cloro mEq/L	Grupo 2	92,25	92,78	96,55	94,33	97,57	98	95,1		7,34
	Grupo 3	98,6	94,6	94	95	98,2	100,4	96,8		8,33
	Média	94,69	93,43	95,64	94,57	97,83	99	95,75	6,16	7,72
Potássio mEq/L	Grupo 2	4,66	4,96	4,99	4,64	4,28	4,84	4,73		0,97
	Grupo 3	5	5,24	4,88	4,56	4,94	5,46	5,01		1,09
	Média	4,8	5,07	4,95	4,61	4,56	5,1	4,84	20,25	1,02

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05). Ns, P>0,05. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

Comportamento do cálcio, magnésio e fósforo

As concentrações sanguíneas de cálcio e magnésio (tabela 21) não exibiram diferenças entre os grupos, ou seja, não houve interferência da antibioticoterapia com enrofloxacina ou do anti-inflamatório sobre as concentrações desses minerais.

O grupo 3 apresentou maior (p<0,05) concentração de fósforo (tabela 21) do que o grupo 2 e não foi observado diferença entre os momentos da diarreia. A enrofloxacina pertence ao grupo das quinolonas, que exibem a característica de formar quelatos com cations, resultando em complexos insolúveis (Deppermann, 1993) e, desta forma poderia diminuir a absorção de cátions como o fósforo e cálcio. Este efeito não foi observado no presente trabalho, porém Tras et al. (2001), observaram decréscimo das concentrações de fósforo, cálcio e potássio em cães tratados com enrofloxacina.

A concentração de cálcio diminuiu (p<0,05) a partir do segundo dia de diarreia e se manteve baixa até o sétimo dia e não houve diferença entre os grupos (tabela 21). Independentemente do mecanismo da diarreia, esta acarreta elevação das perdas de eletrólitos nas fezes, como cálcio, sódio, potássio, cloro e bicarbonato (Argenzio, 1985; Constable et al., 1996; Naylor, 1999). Isso aconteceu, pois, apesar dos bezerros serem hidratados no período da diarreia, o soro não apresentava nenhum componente com cálcio, logo a sua perda não foi reposta.

A concentração do magnésio não exibiu diferença (p>0,05) nos dias de diarreia e entre os grupos (tabela 21). Contrapondo a este resultado, Slanina et al. (1984) constataram redução da concentração de magnésio em bezerros com diarreia. Apesar do soro oral utilizado não conter magnésio, a quantidade de sucedâneo consumida, provavelmente supriu as necessidades desse mineral.

Tabela 21: Comportamento dos eletrólitos (Ca⁺, P⁻ e Mg⁺) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)

Eletrólito	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Calcio mg/dL	Grupo 2	11,4a	11,43a	10,75b	10,98b	10,47b	9,96b	10,47		1,82
	Grupo 3	10,98a	10,12a	9,12b	9,56b	9,40b	9,62b	9,8	3,87	1,66
Fósforo mg/dL	Grupo 2	9,93	10,14	10,64	10,12	10,14	10,02	10,18B		1,71
	Grupo 3	11,83	12,29	10,52	10,49	10,36	12,18	11,27A	13,81	2,45
Magnésio mg/dL	Grupo 2	2,47	2,74	2,78	2,83	2,55	2,47	2,66		0,4
	Grupo 3	2,64	2,7	2,38	2,48	2,32	2,56	2,51		0,4
	Média	2,54	2,72	2,63	2,71	2,46	2,51	2,6	11,74	0,4

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05). Ns, P>0,05. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

Comportamento das enzimas hepáticas

Os bezerros tratados com enrofloxacin e flunixin meglumine apresentaram valores mais altos das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FAL) (tabela 22). O anti-inflamatório flunixin meglumine e o antibiótico enrofloxacin são metabolizados no fígado. A enrofloxacin, quando metabolizada, forma um metabólito ativo, a ciprofloxacina (CIP) (Lúcia e Sertié, 1980; Otero *et al.*, 2001). Em equino e cães, o flunixin meglumine apresenta efeitos colaterais que podem incluir lesões hepáticas e alterações, uma vez que a metabolização dos AINEs é realizada no fígado, na dependência de enzimas de oxidação e várias reações de conjugação envolvem a eliminação dessas drogas (Lúcia e Sertié, 1980; Forney, 2007). Logo, os animais tratados apresentaram maiores níveis de AST, ALT e de ALP, demonstrando maior atividade hepática para metabolizar os medicamentos. Efeito semelhante foi observado em cães

tratados com enrofloxacin com 5mg/kg durante 14 dias (Tras, 2001), com elevação da enzima AST e da bilirrubina indireta. A bilirrubina total não sofreu alterações no presente trabalho. Apesar do metabolismo hepático da medicação do grupo 3, não é comum a bilirrubina total aumentar, mesmo em lesão hepática mais grave (Cornelius, 1989).

A GGT também apresentou valores mais altos no grupo 3 (tabela 22) e foi diminuindo no período da diarreia em ambos os grupos. A GGT é excretada em grande quantidade via colostro e bezerros neonatos apresentam grandes concentrações sanguíneas dessa enzima (Braun *et al.* 1982, Fagliari *et al.* 1996, Zanker *et al.* 2001). Tanto a proteína total quanto o GGT de ambos os grupos demonstraram eficiência na colostragem, uma vez que a atividade sérica da GGT, uma vez que a atividade do GGT menor do que 50U/L, indicam falha de transferência de imunidade passiva (Radostits *et al.*, 2007).

As enzimas ALT e AST não apresentaram variação durante o curso da diarreia, porém as concentrações de GGT declinaram gradativamente neste período, demonstrando degradação da enzima oriunda do colostro (tabela 22) (Thompson e Pauli, 1981; Silva, 2007; Feitosa et al., 2009)

O LDH diminuiu ($p < 0,01$) nos dias de diarreia e não sofreu influência do grupo. Os dias 0, 1 e 2 foram iguais e maiores que os dias 3, 5 e 7 (tabela 22). O LDH é encontrado em altas concentrações no colostro (Zarrilli et al., 2003). Esta diminuição durante a diarreia deve-se à degradação da enzima vinda do colostro com o passar dos dias no período da diarreia neonatal.

A concentração de fosfatase alcalina foi menor ($p < 0,05$) nos dias 3, 5 e 7 da diarreia e maior ($p < 0,01$) no grupo 3 (tabela 22). A atividade da ALP é maior em animais jovens, devido a elevada atividade

osteoblástica (Keller, 1981; Kerr, 2002). No entanto, a diarreia neonatal causa diminuição da conversão alimentar e retardo no crescimento (Langoni et al., 2004). No início da diarreia, a ALP foi mais alta, mas diminuiu com evolução da diarreia e com a queda do cálcio, indicando menor atividade osteoblástica (tabela 22). O grupo 3 apresentou maiores valores de ALP, pois ambos os medicamentos possuem metabolização no fígado e poderia estar induzindo maior síntese de ALP, uma vez que sua origem é principalmente hepática.

Silva (2007) encontrou redução da ALP após indução da infecção por *Salmonella*. No entanto, Lechowski (1996) e Sobiech e Kuleta (2006) relataram aumento da atividade da enzima ALP nos bezerros com diarreia, indicando alteração da função hepática. Esta diferença de resultado pode estar relacionada com a gravidade e a duração da diarreia.

Tabela 22: Comportamento das enzimas hepáticas (AST, ALT, GGT, fosfatase alcalina e bilirrubina total) em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)

Enzimas	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
AST (U/L)	Grupo 2	56	50,37	50,22	51,22	51	50,43	51,63B		12,02
	Grupo 3	48,6	53,8	62,6	63,4	61	58,2	57,93A	25,29	16,91
ALT (U/L)	Grupo 2	42,11	35,87	37,22	39,22	34,57	34,28	37,47B		10,31
	Grupo 3	43,2	43,8	44,2	44,2	48,6	35,6	43,27A	28,85	13,32
LDH (U/L)	Grupo 2	458a	431,50a	428,78a	394,22b	342,71b	337,86b	402,96		84,23
	Grupo 3	412,6a	394,80a	356,4a	357,20b	330,20b	353,20b	367,40	14,26	57,64
GGT (U/L)	Grupo 2	318,89a	211,37b	212,89b	138,33c	105,14c	72,43c	182,96A		146,65
	Grupo 3	173,20a	102,60b	126,40b	68,00c	47,40c	37,60c	92,53B	24,07	65,85
Fosfatase Alcalina	Grupo 2	205,25a	233,33	232,44	189,71	192,00	167,57	205,27B		79,34
	Grupo 3	312,00a	340,8	303,2	223,4	196,40	195,00	261,80A	16,79	116,05
Bilirrubina total (mg/dL)	Grupo 2	1,75	1,7	1,62	1,57	1,7	1,49	1,63		0,41
	Grupo 3	1,59	1,66	1,73	1,79	1,8	1,57	1,69		0,36
	Média	1,68	1,68	1,66	1,65	1,74	1,51	1,66	21,08	0,39

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

Comportamento da uréia e creatinina

As concentrações de ureia não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre grupos e entre os momentos da diarreia (tabela 23).

Foi observado aumento da creatinina ($p < 0,05$) apenas durante a diarreia (tabela 23), mostrando que os bezerros apresentaram algum grau de desidratação com a diarreia, refletindo em menor clearance renal e aumento da sua concentração com os dias de diarreia. A creatinina é liberada da musculatura esquelética em concentração mais ou menos constante, já que é reflexo da massa muscular, a qual não se altera rapidamente (Radostits et al., 2007). Além disso, a creatina é filtrada livremente através dos

glomérulos, excretados pelos rins e uma pequena fração é reabsorvida ou secretada em túbulos (Monke, 1998). El-sheikh et al. (2012) observaram aumento da creatinina em bezerros com diarreia severa e moderada.

O aumento da creatinina durante a diarreia sem concomitante aumento da uréia (tabela 23) é indicativo de desidratação leve ou do catabolismo protéico, uma vez que foi observado declínio gradual da glicemia no curso da diarreia (Kerr, 2002; Kaneko et al., 2008).

Tabela 23: Comportamento da uréia e creatinina em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)

	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Uréia (mg/dL)	Grupo 2	14,75	13,44	13	19,77	18,28	19,57	16,3		8,59
	Grupo 3	12,8	11,4	14,2	12,4	11,8	17,2	13,3		4,82
	Média	14	12,71	13,43	17,14	15,58	18,58	15,16	21,39	7,5
Creatinina (mg/dL)	Grupo 2	0,89b	0,99a	1,09a	1,44a	1,15b	1,20a	1,12		0,47
	Grupo 3	0,86b	1,37a	1,19a	1,1a	0,96b	1,22a	1,12	31,29	0,29
	Média									

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

Comportamento da albumina e da proteína total

As concentrações de albumina e proteína plasmática não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) entre os grupos e nem entre os dias em diarreia (tabela 24).

Apesar do aumento da concentração sérica da proteína total estar associada

freqüentemente a quadros de hemoconcentração, como na diarreia, a fluidoterapia e a quantidade de sucedâneo ingerida nesse período foi capaz de manter a concentração de albumina e PT dentro da normalidade (Slanina et al., 1984; Gonçalves et al., 1991).

Tabela 24: Comportamento da uréia e creatinina em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)

	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Albumina (g/dL)	Grupo 2	2,27	2,28	2,35	2,35	2,47	2,4	2,35		0,22
	Grupo 3	2,48	2,44	2,18	2,36	2,34	2,36	2,36		0,36
	Média	2,35	2,33	2,29	2,35	2,42	2,38	2,35	7,08	0,28
Proteína Total (g/dL)	Grupo 2	6,2	6	6,42	6,09	6,06	5,81	6,11		0,75
	Grupo 3	6,36	5,98	5,9	5,6	5,78	5,92	5,92		0,9
	Média	6,26	5,99	6,23	5,91	5,94	5,86	6,04	11,43	0,81

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

Comportamento do lactato

A concentração do lactato sérico variou ($p < 0,05$) entre os grupos 2 e 3 e não variou entre os momentos (tabela 25). A média do grupo 3 foi maior do que o grupo 2, no entanto os valores ficaram dentro dos valores de referência e o desvio padrão foi

duas vezes menor ao do grupo 2, caracterizando uma menor variação individual do lactato no grupo 3 (tabela 22). Apesar de não ter variação entre os momentos no grupo 2, os valores de lactato nos dias 5 (2,43mm/L) e 7 (2,54mm/L) estavam fora dos de referência (Freitas,

2009). A concentração normal de lactato no soro, em humanos, é de aproximadamente 1-2 mmol/L, sendo constituída basicamente de L-lactato, pois esta é a forma produzida pelos mamíferos, enquanto a forma D-lactato é produzida em concentração nanomolar (nmol) pela via metilglioxal (Ewaschuk et al, 2005; Petersen, 2005; Uribarri e Carrol, 1998). O L- lactato é eliminado mais facilmente pelo metabolismo hepático, extra-hepático e pela excreção renal (Naylor et al.,1984). Como a forma D do ácido láctico é basicamente adquirida por fonte exógena através da

fermentação bacteriana no trato gastrointestinal, os valores aumentados de lactato encontrados no grupo 2 nos momentos mais avançados da diarreia, podem ter vindo do metabolismo de bactérias que estavam em desequilíbrio no período da diarreia (Hove e Mortensen, 1995). O uso do antibiótico pode ter diminuído a variação do lactato durante a diarreia, uma vez que o uso do medicamento pode ter controlado o crescimento dos enteropatógenos produtores de D- lactato.

Tabela 25: Comportamento do lactato em bezerros durante os dias 0 (basal), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)

Metabólito	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Lactato (mmol/L)	Grupo 2	1,9	1,73	1,17	1,34	2,43	2,54	1,75B		1,39
	Grupo 3	2,07	1,49	2,2	1,75	1,71	1,77	1,83A	21,6	0,64

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05). Ns, P>0,05. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

Comportamento da glicose

A concentração de glicose foi diferente (p<0,01) entre os dias de diarreia e houve interação (p<0,01) entre dia de diarreia e grupo (tabela 26). Em ambos os grupos, a glicose ficou entre os valores de referência, refletindo o efeito da manutenção da ingestão do sucedâneo de leite e da administração do soro oral

No grupo 2, a glicemia foi menor nos últimos dias de diarreia avaliado (dia 3, 5 e 7) (tabela 26). Enquanto, no grupo 3, a glicemia foi mais baixa nos dias 2, 3 e 5 de diarreia. Segundo Russel e Roussel (2007) bezerros com distúrbios de má absorção nas diarreias, septicemia ou desnutrição podem levar à diminuição nas concentrações séricas de glicose. Nas diarreias naturais, a anorexia devido à depressão do animal, à própria patogenia das diarreias, provoca má

digestão e absorção, podendo levar o animal a um quadro de hipoglicemia (Bouda et al., 1997; Kaneko et al., 2008). Santos et al. (2002) observaram redução significativa na concentração de glicose nos bezerros infectados experimentalmente com *S. Typhimurium* nas primeiras 48 horas após a infecção experimental. Freitas (2009) encontrou bezerros hipoglicêmicos em 66% e 80% das bezerras no terceiro e quinto dia de diarreia respectivamente.

Apesar do maior consumo de sucedâneo do grupo 3, este apresentou concentração de glicose menor em relação ao grupo 2 nos dias 2, 3 e 5. Isso pode ser explicado pelo tratamento usado para diarreia, uma vez que foi utilizado flunixin meglumine, um anti-inflamatório não esteroideal nos 3 primeiros dias de diarreia. Os AINEs podem induzir hipoglicemia, pois influenciam na atividade de vários canais iônicos nas células β ,

secretoras de insulina no pâncreas, aumentando a sua atividade (Li et al, 2007).

Tabela 26: Comportamento da glicose em bezerros durante os dias 0 (controle), 1, 2, 3, 5 e 7 de diarreia com avaliação nos momentos e entre os grupos 2 (sem tratamento) e 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)

	Grupo	Momento de Coleta (dia de diarreia)						MT	CV	DP
		0	1	2	3	5	7			
Glicose (mg/dL)	Grupo 2	82,38Ab	79,78Ac	82,54Aa	75,96Ad	75,26Ae	64,72Bf	77,47		17,14
	Grupo 3	101,58Aa	85,75Ab	67,31Bd	54,97Bf	65,07Be	77,46Ac	75,35	21,87	24,61

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ns, $P > 0,05$. MT, média total. CV, coeficiente de variação (%). DP, desvio padrão

8.2. Avaliação da frequência dos enteropatógenos e suas associações em bezerros nos grupos 2 (sem tratamento com medicamento) x 3 (tratado com antibiótico e anti-inflamatório)

Neste trabalho, foi realizada a pesquisa de seis enteropatógenos: *Cryptosporidium* spp., *Rotavirus*, *Eimeria* spp, *Giardia duodenalis*, *E. coli* e seus patótipos e *Salmonella* spp. Como no experimento I, todos os agentes foram identificados nos grupos 1 e 2 durante os episódios de diarreia, com exceção da *Eimeria*.

Para a realização das análises estatísticas, considerou-se o número total de amostras de fezes positivas ou negativas para cada agente. Foram examinadas amostras, originadas de quatro momentos de coleta, sendo 32 amostras no grupo 2 e 20 amostras no grupo 3. Não foi observada diferença estatística ($p > 0,05$) da frequência dos agentes estudados, exceto da *Salmonella*, entre os grupos 2 e 3 (6L x 6L com antibiótico e anti-inflamatório) (tabela 27).

A frequência da *Salmonella* foi maior ($p < 0,05$) no grupo 2 (43,7%) do que no grupo 3 (10%) (tabela 27). A *Salmonella* foi diagnosticada em 66,6% (6/9) dos animais no grupo 2 e em 20% (1/5) no grupo 3

(tabela 27). Este agente esteve presente em 43,7% (14/32) das amostras fecais e em 10% (2/20) nos grupos 2 e 3, respectivamente (tabela 27). No grupo 2, a *Salmonella* foi positiva em todos os momentos da diarreia, com frequência de 33,33% (3/9), 33,33% (3/9), 71,42% (5/7) e 42,85% (3/7) nos dias 1, 3, 5 e 7, respectivamente. No grupo 3, o enteropatógeno foi positivo apenas nos dias 1 e 3 de diarreia, com frequência de 20% (1/5) em ambos os dias. A associação mais frequente em ambos os grupos foi com o *Cryptosporium*, foi observada frequência de 45,5% no grupo 2 e 50% no grupo 3 (gráfico 4).

Em um estudo realizado por Todd et al (2010), demonstraram que o uso do anti-inflamatório não esteroideal melhorou o apetite e o desempenho do bezerro, funcionando apenas como um apoio na diarreia neonatal, logo o flunixin meglumine não interferiu nos resultados encontrados. Esta diferença da frequência da *Salmonella* entre os grupos deve-se ao uso do enrofloxacin, uma vez que Centeno (2010) e Bischoff (2003) observaram ausência de resistência da *Salmonella* à enrofloxacin, confirmando a eficácia do antibiótico no tratamento na infecção por *Salmonella*.

Tabela 27: Frequência (%) de animais e amostras positivas por enteropatógeno no grupo 2 (sem tratamento) e 3 (com tratamento)

Agentes	Grupo 2		Grupo 3	
	Animais positivos % n= 9	Amostras positivas % n= 32	Animais positivos % n= 5	Amostras positivas % n= 20
Criptosporidium	100	71,9	100	60
Rotavírus	22,2	6,2	40	20
Eimeria	0	-	0	-
Giardia	33,3	9,4	0	0
E. Coli	44,4	15,6	40	10
Salmonella spp.	66,6	43,7	20A	10B

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste Exato de Fisher (p<0,05).

Gráfico 3 - Frequência (%) de amostras positivas no período da diarreia (1, 3, 5 e 7) para cada agente etiológico no grupo 2 (sem tratamento) e 3 (com tratamento)

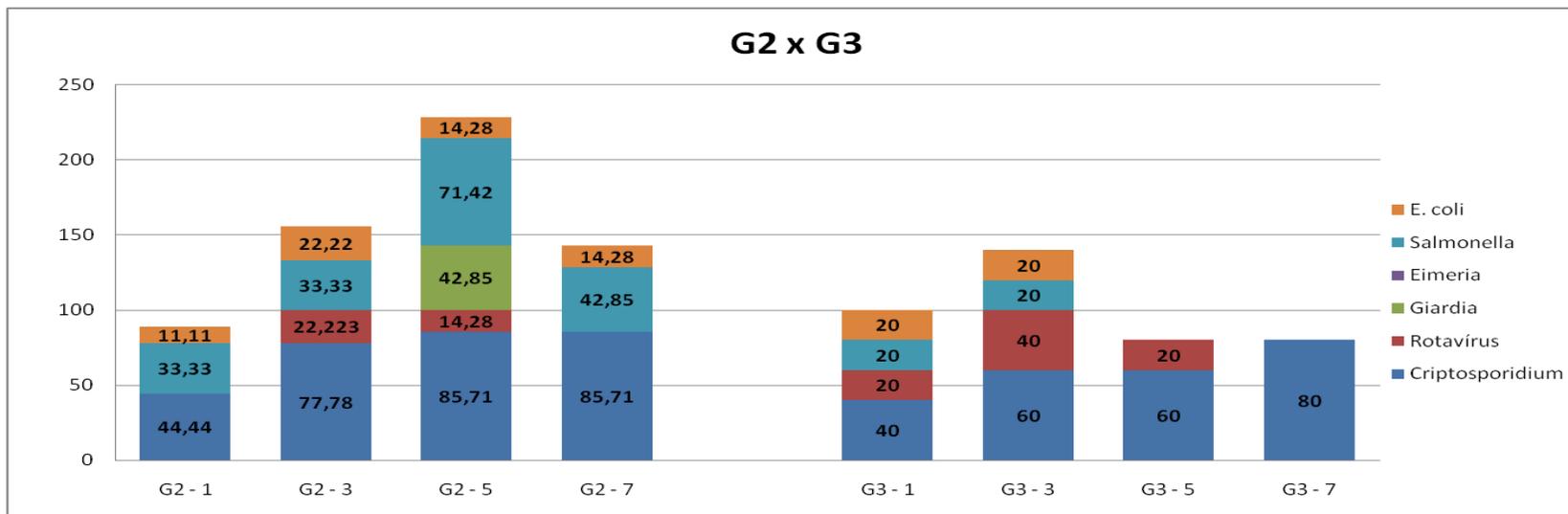
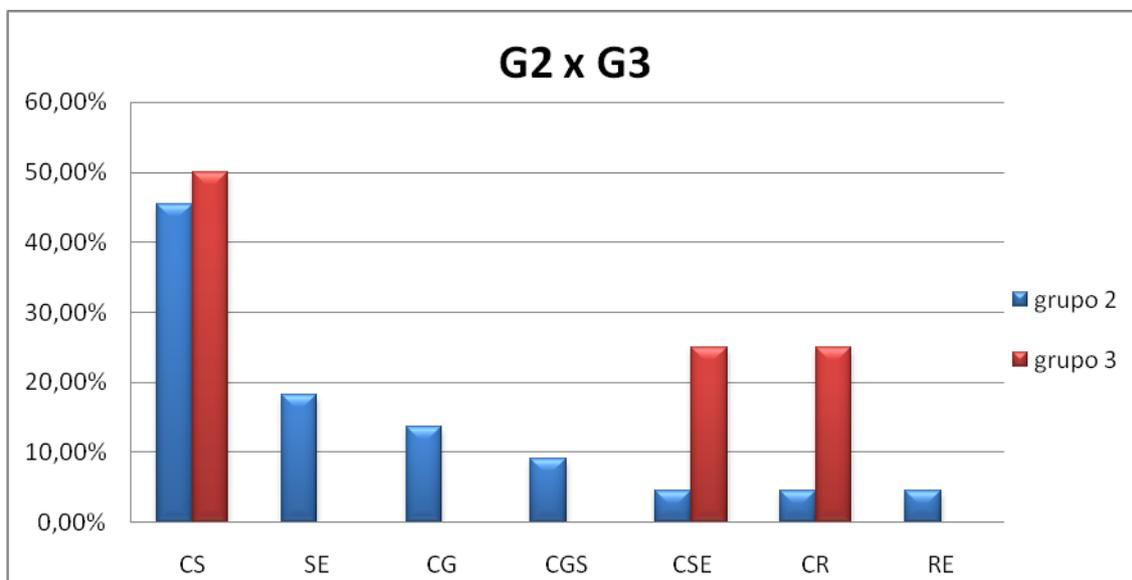


Gráfico 4 - Frequência das associações das infecções entéricas do grupo 2 (sem tratamento) e 3 (com tratamento com antibiótico e AINEs)



C- *Cryptosporidium*, S- *Salmonella*, E- *E. coli*, G- *Giardia*, R- *Rotavirus*

As amostras positivas de *Salmonella* foram classificadas quanto ao sorotipo. Das 14 (100%) amostras positivas do grupo 2, sete foram classificadas como *Salmonella* Muenster (50%), três como *Salmonella* Infantis (21,42%) e cinco tiveram infecção mista por *Salmonella* Muenster e *Salmonella* Infantis (28,57%). No grupo três, das duas (100%) amostras positivas, ambas apresentaram como sorotipo a *Salmonella* Muenster e a *Salmonella* Infantis simultaneamente. Como no experimento I, o sorotipo Muenster e Infantis predominaram, reforçando a idéia de que são necessárias mais pesquisas sobre a distribuição dos sorotipos no Brasil, uma vez que a frequência da *Salmonella* neste estudo foi bastante significativa em bezerros diarreicos.

Patotipos de *E. coli* (amostras com gene de virulência) foram identificados em 44,4% (4/9) dos animais e em 15,6% (5/32) das amostras de fezes do G2 e em 40% (2/5)

dos animais e 10% (2/20) das amostras do G3 (tabela 24). No grupo 2, a *E. coli* foi encontrada em todos os dias avaliados, com frequência de 11,11% (1/9), 22,22% (2/9), 14,28% (1/7) e 14,28% (1/7) nos dias 1, 3, 5 e 7, respectivamente (gráfico 3). Enquanto no grupo 3, foi encontrado somente no dia 1 (20%) e 3 (20%). A literatura mostra valores muito diversificados relacionados com a presença da patotipos de *E. coli* em fezes de bezerros. Batista (2005) encontrou ausência de *E. coli* com genes de virulência em bezerros diarreicos com idade entre 7 e 14 dias, utilizando KIT ELISA. Enquanto Salvadori et al. (2003), analisando 205 amostras de fezes de bezerros diarreicos, encontraram 20 amostras com a toxina stx1, 13 com stx2, 8 com sta, 5 com adesina fimbrial F5 e 7 com o gene eae. Como demonstrado no experimento I, a variedade de frequência da *E. coli* patogênica pode estar relacionada à metodologia utilizada.

Apesar do uso do antibiótico no grupo 3, não foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos 2 e 3 em relação à frequência da *E. coli* patogênica nas amostras fecais. Contrapondo com o resultado, Oliveira Filho (2007) testou uma variedade de antibióticos e mostrou que a enrofloxacinina foi um dos antimicrobianos mais efetivos contra vários enteropatógenos, inclusive a *E. coli*.

Das cinco amostras positivas para *E. coli* (patogênica) do grupo 2, como foi mostrado no experimento I, foi encontrado duas amostras classificadas como EHEC, uma como EPEC, uma como ETEC e uma como ETEC e STEC simultaneamente. No grupo 3, das três amostras positivas para patótipos de *E. coli*, uma foi classificada como EPEC e a outra como EPEC e ETEC. Coura (2011) encontrou associação entre os casos de diarreia por EHEC positiva e animais na segunda e quarta semanas de vida, no entanto, em ambos os grupos, os animais que apresentaram EHEC estavam na primeira semana de vida.

Nos grupos 2 e 3, o agente mais frequente foi o *Cryptosporidium*. Em ambos os grupos, o *Cryptosporidium* esteve presente em 100% dos animais (tabela 27). No grupo 2 foi encontrado o agente em 71,9% (23/32) das amostras e no grupo 3 em 60% (12/20) das amostras (tabela 27). Foram positivos para *Cryptosporidium* 44,44% (4/9), 77,78% (7/9), 85,71% (6/7) e 85,71% (6/7) dos bezerros no grupo 2, nos dias 1, 3, 5 e 7 de diarreia, respectivamente (gráfico 3). Enquanto a frequência no grupo 3 foi 40% (2/5), 60% (3/5), 60% (3/5) e 80% (4/5) respectivamente (gráfico 3). Batista (2005), encontrou prevalência de 68% em fezes diarreicas de bezerros de 7 a 14 dias. Enquanto Langoni et al (2004), encontrou prevalência de 21,3% em bezerros diarreicos com até 60 dias. A idade do bezerro apresenta correlação significativa com maiores taxas de eliminação de oocistos nas fezes, sendo que

animais com idade entre 8 e 21 dias são considerados os maiores riscos contaminação dentro de uma propriedade (Maldonado-Camargo et al., 1998; Naciri et al., 1999; Uga et al., 2000; Feitosa et al., 2004; Trotz-Williams et al., 2007; Brook et al., 2008; Santín et al., 2008).

O diagnóstico de *Giardia* nos animais foi baixo no grupo 2 (33% - 3/9) e ausente no grupo 3 (tabela 24). A frequência nas amostras fecais foi 9,4% no grupo 2 e o agente foi observado apenas no dia 5 (42,85% - 3/7) (gráfico 3). Em todos os momentos, a *Giardia* foi encontrada associada ao *Cryptosporidium* (gráfico 4). O período pré-patente da *Giardia* em bezerros é de 7-8 dias de acordo com Taminelli et al. (1989), dois bezerros do experimento eliminaram cistos de *Giardia* com 10 dias de idade e um bezerro com 10 dias. Os animais se contaminaram precocemente, como foi dito no experimento I, o bezerreiro onde foi conduzido o presente estudo é localizado dentro do hospital veterinário, local onde a contaminação por cistos de *Giardia* é grande devido aos atendimentos de cães infectados pelo agente.

Neste experimento, a eimeriose foi ausente. Apesar de ser um agente importante na síndrome diarreica, a eimeriose não é comum em bezerros neonatos, pois este agente tem o período pré-patente mais prolongado (6-20 dias) (Levine, 1973).

9. Conclusões

1. A diarreia causa diminuição das concentrações sanguíneas de cálcio em bezerros neonatos.
2. A atividade das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT), diminui com o avanço da idade em bezerros neonatos.

3. A diminuição da ingestão de sucedâneo durante a diarreia contribui para a desidratação do animal.
4. Bezerros neonatos com diarreia apresentam queda da glicemia com o avanço do quadro diarréico e pode ser influenciada com o uso de anti-inflamatório não esteroidal.
5. Durante o período de patência da diarreia neonatal de bezerros, vários enteropatógenos podem ser identificados, ocorrendo na maioria das vezes, de forma associada.
6. Na situação estudada, o *Cryptosporidium* foi o agente mais importante e sua associação com as bactérias *Salmonella* e *E. coli* foram muito freqüentes.

10. Considerações finais

A pesquisa longitudinal dos enteropatógenos na diarreia neonatal contribuiu para o melhor entendimento do comportamento dos agentes causadores de diarreia, colocando em evidência que vários agentes podem estar envolvidos e em grande parte, encontrados de forma associada.

12. Referências bibliográficas

ALLEN, S. H.; HOLM, J. L. Lactate: physiology and clinical utility. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.*, v. 18, n. 2, p. 123-132, 2008.

AL-MAJALI, A.M.; ASEM, E.K.; LAMAR, C.H. et al. Characterization of the interaction of Escherichia coli heat-stable enterotoxin (STa) with its putative receptor on the intestinal tract of newborn calves. *FEMS Immunol Med Microbiol.*, v. 28, n. 2, 2000.

ALMEIDA, A.J.; MONTEIRO, M.I.; BRAGA, R.S. et al. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em animais errantes apreendidos em Campos dos Goytacazes, RJ. *J. Bras. Cienc. Anim.*, v.1, p.66-75, 2008.

ALMEIDA, V.A.; MAGALHÃES, V.C.S.; MUNIZ NETA, E. S. et al. Frequência de espécies do gênero *Eimeria* em bovinos naturalmente infectados no Sudeste da Bahia, Nordeste do Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 20, n. 1, p. 78-81, 2011.

AMBROSIM, J.A.; ALMEIDA, F.S.; RIGOBELLO, E.C. et al. Epidemiological, antigenic and pathogenic profile of bovine diarrhea in a Brazilian Cattle Population. *Revue Élev. Méd. Vét. Pays. Trop.*, v.55, n.1, p. 15-20, 2002.

ARGENZIO R.A. Pathophysiology of neonatal calf diarrhea. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.1, n.3, p. 461-9, 1985.

ARGENZIO RA, ARMSTRONG M, RHOADS JM. Role of the enteric nervous system in piglet cryptosporidiosis. *J Pharmacol Exp Ther.*, v. 279, n. 3, p. 1109-15, 1996.

ARGENZIO, R.A.; LIACOS, J.A.; LEVY M.L. et al. Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired glucose-Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs. *Gastroenterology.*, v. 98, n.5, p. 1129-40, 1990.

BAGLEY, C.V. *Influence of nutrition and management on calf scours (bovine neonatal diarrhea)*. In: PROC. INTERMOUNTAIN NUTR. CONF., 2001, Utah State Univ Logan, p. 27-37, 2001.

BARBOSA, E.F.; FIGUEIREDO, H.C.P.; GARCIA, A.M. et al. Rotavírus do grupo A em bezerros lactentes no Estado de Minas Gerais. *Ciência Rural*, v.28, n.3, p.435-439, 1998.

BARNUM, D.A. *Salmonella muenster*: a new problem in Ontario dairy herds. Highlights of Agricultural Research in Ontario. Toronto: Ontario Ministry of Agriculture and Food., v.6, p.4-7, 1983.

BARROW, P.A.; JONES, M.A.; THOMSON, N. *Salmonella*. In: GYLES, C.A.; PRESCOTT, J.F.; SONGER, J.G.; THOEN, C.O. *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. 4. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. Cap.14, p.231-265.

BARTELS, C.J.; HOLZHAUER, M.; JORRITSMA, R. et al. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev. Vet. Med.*, v.93, p.162-169, 2010.

BATISTA, C.G. *Efeito da adição de Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum e Enterococcus faecium ao leite sem resíduo de antimicrobiano ou leite de vacas tratadas contra mastite no desempenho*

e saúde de bezerras da raça holandesa em aleitamento. 2005. 49f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BAUMLER A.J.; TSOLIS R.M.; FICHT T.A. et al. Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. *Infect Immun.*, v. 66, n.10, p.4579-4587, 1998.

BECHER, K. A. I. D.; ROBERTSON, D. M.; FRASER, D. G. et al. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. *Vet Parasitol.*, v.123, p. 1-9, 2004.

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

BIEWER, C. *Epidemiologische Erhebungen in einem Praxisgebiet in Franken zu nicht-infektiösen Faktoren mit Einfluss auf Inzidenz und/oder Letalität des akuten Durchfalls junger Kälber*. *Veterinary*. 2001. Dissertation, University of Munich.

BIRD, R.G.; SMITH, M. D. Cryptosporidiosis in man: parasite life cycle and final structural pathology. *Journal of Pathology*, v. 132, p. 217-233, 1980.

BISCHOFF, K.M.; EDRINGTON, T.S.; CALLAWAY, T.R; et al. Characterization of antimicrobial resistant *Salmonella* Kinshasa from dairy calves in Texas, *Letters in Applied Microbiology*, v.38, p. 140, 2004.

BOUDA, J.; MARTINEZ, L.P.; ROMAHN C.L. et al. Estudio de los

parâmetros clínicobioquímico antes y después de rehidratación oral em becerros diarreicos. *Veterinaria Mexico*, v.28, n.2, p.87-91, 1997.

.BRACKELSBERG C.A, NOLAN L.K, BROWN J. Characterization of *Salmonella* Dublin and *Salmonella typhimurium* (Copenhagen) isolates from cattle. *Vet Res Commun*, v.21, n. 6, p. 409-420, 1997.

BRAUN J.P.; TAINTURIER D.; LAUGIER C. et al. Early variations of blood plasma gamma-glutamyl transferase in newborn calves: A test of colostrum intake. *J. Dairy Sci.*, v 65, n. 11, p. 2178-2181, 1982.

BRITO, W. M. E. D. Bovine *Rotavirus* in the State of Goiás. *Revista de Microbiologia*, v. 25, p. 229-234, 1994.

BROOK, E.; HART, C.A.; FRENCH, N. et al. Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp. infection in young calves. *Veterinary Parasitology*, v.152, p.46-52, 2008.

BURET, A. G. K. G.; SCOTT, A. C. *Giardiasis, pathophysiology and pathogenesis*. CAB Int., Wallingford, UK, Chin 2002, p.109-125.

BUTLER, D.G.; CLARKE, R.C. Diarrhoea and dysentery in calves. In GYLES C.L. (Ed.) *E. coli in domestic animals and humans*. Wallingford: Cab International, 1994. p.91-116.

BUZINARO, M.G.; MISTIERI, M.L.A.; CARVALHO, A.A.B.; SAMARA, S.I.; REGITANO, L.C.A.; JEREZ, J.A. Prevalência de rotavírus do grupo A em fezes diarreicas de bezerros de corte em sistema semi-intensivo de produção. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55, n.3, p.266-270, 2003.

- BUZINARO, M. G. et al. Detection of rotavirus in diarrheic faeces sample from beef herd calves in São Paulo State, Brazil. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 11, *Anais...* São Lourenço, 2011.
- CACCIO, S.M.; THOMPSON, R.C.; MCLAUCHLIN, J. et al. Unravelling Cryptosporidium and Giardia epidemiology. *Trends Parasitol*, v.21, p. 430-437, 2005.
- CARLSON, G.P.. Fluid electrolyte and acid-base balance. In: KANECO, J.. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. London: Academic Press, 1997. p. 485-515.
- CENTENO, M. M. G. F. L. (2010). *Influência do uso de fluoroquinolonas no aparecimento de Escherichia coli e Salmonella spp. multirresistentes em vitelos*. Dissertação de Mestrado. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.
- CERQUEIRA, M.M.O.P. *Controle da coccidiose bovina através da administração contínua de anticoccídios na ração e no sal mineral*. 1988. 61f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva). Universidade Federal de Minas Gerais.
- CHURCH, D. C. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, 1988.
- CLEMENTE, V.; SILVEIRA, C.R.A.; SILVA, D.G. et al. Concentração sanguínea de minerais em bezerros bubalinos com Salmonelose experimental. 38º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária - CONBRAVET, 2011.
- COELHO, S.G. Desafio na criação e saúde de bezerros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, Belo Horizonte, p.1-16. 2009.
- CONSTABLE, P.D.; GOHAR, H.M.; MORIN, D.E. et al. Use of hypertonic saline – dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea. *American Journal of Veterinary Research*, v.57, p.97-104, 1996.
- CONTRERAS, J.; PALACIOS, J. Detection of five agents (Coronavirus, Rotavirus, E. coli, Salmonella spp and Cryptosporidium sp) from calves diarrheic samples in la Laguna Mexico region. *Hungarian Veterinary Journal*, v.130, supplement II (Oral and Poster Abstracts), p.233, 2008.
- CORNELIUS, C.E. *Liver function*. In: Kaneko JJ, editor. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th edition. San Diego: Academic Press; 1989. p. 364–97.
- CORNELIUS, C.E. *Liver function*. In: Kaneko JJ, editor. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th edition. San Diego: Academic Press; 1989. p. 364–97.
- COSTA, R.R.; SANTOS, E.E.; ANDRADE, M.A. et al. Frequência e causas de doenças do aparelho digestivo em bezerros na bacia leiteira de Goiânia. *Anais da E.A.V.*, ano 9, n.1, p.108-125, 1979.
- COURA, F. M. *Estudo longitudinal prospectivo da incidência de enteropatógenos em bezerras em uma propriedade leiteira*. 50f. 2011. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CRAUN, G. F. Water born *Giardiasis*.; In *Giardiasis*. Ed. Meyer E. A. Elsvoer

- science publisher, B. V. Netherland, 1990.
- CROXEN, M.A. & FINLAY, B.B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat.Rev.Microbiol.* 8: 26–38, 2010.
- DAUGSCHIES, A.; NAJDROWSKI, M. Eimeriosis in cattle: current understanding. *J.VetB.Infect.Dis.VetPublic Health*, v.52, n.1, p.417-427, 2005.
- DAVIS, C. L.; Drackley, J. K. The Development, Nutrition, and Management of the Young Calf. Iowa State University Press. Ames, IA, 1998.
- DAVOUDI, Y.; GAREDAGHI, Y.; NOURMOHAMMADZADEH, F. et al. Study on prevalence rate of Coccidiosis in diarrheic calves in East-Azerbaijan province. *Advances in Environmental Biology*, v. 5, p.1563-1565, 2011.
- DEBROY, C.; MADDOX, C. W. Identification of virulence attributes of gastrointestinal *Escherichia coli* isolates of veterinary significance. *Animal Health Research Reviews.*, v 1, p. 129–140, 2001.
- DEPPERMAN, K. & LODE, H., 1993. Fluoroquinolones: interaction profile during enteral absorption drugs, p. 65-72.
- DESHPANDE, P. D.; SHASTRI, U. V. Incidence of *Giardia* infection in calves in Maharashtra State, India. *Trop. Anim. Health Prod.*, v 13, n. 1, p. 34, 1981.
- DiBARTOLA, S.P. Fluid therapy in small animal practice. 2^aed. Saunders Company: Philadelphia, 2000. 720p.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, ROSENBERGER, M. Exame Clínico dos Bovinos. 3^aEd. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1993, p. 419.
- DOBELL, C. The discovery of the intestinal protozoa of man. *Proc. R. Soc. Med.*, v. 13, p. 1-15, 1920.
- DODET, B.; HESELTINE, E.; MARY, C.; SALION, P. Rotaviruses in human and veterinary medicine. *Sante*, v.7, n.3, p.195–199, 1997.
- DRACKLEY, J.K. 2001. Milk feeding strategies for calves: Does “accelerated growth” make sense. Pages 27-36 in: *Proc. 5th Annu. Professional Dairy Heifer Growers Assoc. National Conf.*, Seattle, WA. PDHGA, Savoy, IL.
- DUBEY, J.P.; SPEER, C.A.; FAYER, R. Cryptosporidiosis of man and animals. Boston: CRC Press, p.199, 1990.
- EDERLI, B.B.; CARVALHO, C.B.; SALES, L.G. Ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* em bezerros na microregião de Campos dos Goytacazes no norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia*, v.13, n.2, p.45-48, 2004.
- EL-SHEIKH, A.K.R; SAMY MORSY, H.M.S; ALLAM ABBAS, T.H, et al. Clinical and Laboratory Examinations of Diarrhea and Dehydration in Newborn Friesian Calves with Special Reference to Therapy with Hypertonic and Isotonic Solution. *Life Science Journal*, v. 9, n.4, p.181-184, 2012.
- EWASCHUK, J. B.; JONATHAN, M. N.; GORDON, A. Z. D-Lactate in Human and Ruminant Metabolism. *American Society for Nutritional Sciences*, p. 1619-1625, 2005.
- FACURY FILHO, E.J. *Evolução da infecção por Eimeria spp em bezerros naturalmente infectados e seu controle*

através da administração de anticocórdios no suplemento mineral. 1992.68f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FAGLIARI J.J.; OLIVEIRA E.C.; PEGORER M.F., et al. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gama glutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v 48, n. 2, p. 105-112, 1996.

FARTHING, M. J. G. *Giardia* comes of age; progress in epidemiology, immunology and chemotherapy. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.30, p. 563-566, 1992.

FAYER, R.; GASBARRE, L.; PASQUALI, P. et al. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal Parasitology*, v.28, p.49-56, 1998.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.*, v. 30, p .1305-1322, 2000.

FAYER, R.; SANTÍN, M.; XIAO, L. *Cryptosporidium bovis*n. SP. (Apicomplexa: Cryptosporididae) in cattle (*Bos taurus*). *The Journal of Parasitology*, v. 91, p. 624-629, 2007.

FEITOSA, F.L.F.; SHIMAMURA, G.M.; ROBERTO, T. et al. Prevalência de Criptosporidiose em bezerros na região de Araçatuba, Estado de São Paulo, Brasil. *Ciência Rural*, v.34, n.1, Jan/Fev, 2004.

FEITOSA, F.L.F.; SHIMAMURA, G.M.; ROBERTO, T. et al. Importância de *Cryptosporidium* spp. como causa de diarreia em bezerros. *Pesquisa Veterinária Brasileira.*, v.28, n.10, p.452-456, 2008.

FEITOSA, F. L. F.; PEIRÒ, J. R.; MENDES, L. C. N. Determinação do perfil bioquímico renal sérico de bezerros holandeses e mestiços, na região de Araçatuba/SP. *Ciência Animal Brasileira*, v. 1, p. 255-258, 2009.

FERREIRA, F. *Fluidoterapia endovenosa e oral em bezerros com diarreia osmótica induzida.* 2001. 74f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia Veterinárias). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FERREIRA, M. G. *Prevalência dos principais enteropatógenos em bezerras da fase de aleitamento em explorações leiteiras semi-intensivas de duas bacias leiteiras do estado de Minas Gerais.* 2009. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciência animal). Belo Horizonte: Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais.

FIGUEIREDO, P.C. *Infecções naturais por eimerias em bovinos de raças leiteiras no Estado de Rio de Janeiro.* 1982. 83f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

FITTON, A. The Quinolones. An Overview of their Pharmacology. *Clinical Pharmacokinetics*, v. 22, p. 1, 1992.

FORNEY, B. C. M. S., VMD. *Equine Medications*, Revised Edition. Blood Horse Publications. Lexington, KY. Copyright 2007.

- FOSTER, D. M.; SMITH G. W. Pathophysiology of diarrhea in calves. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, v. 25, n. 1, p. 13-36, 2009.
- FRANCK, S. M.; BOSWORTH, B. T.; MOON, H. W. Multiplex PCR for Enterotoxigenic, Attaching and Effacing, and Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains from Calves. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 36, p. 1795-1797, 1998.
- FREITAS, M. D. *Avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais de bezerras com diarreia neonatal naturalmente adquiridas*. 2009. 79p. Dissertação (Mestrado em Ciência animal). Belo Horizonte: Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais.
- FURR, M.; LESSARD, P. & WHITE, N. Development of a colic severity score for predicting the outcome of equine colic. *Vet.Surg.*, 24:97-101, 1995.
- GOMEZ, H.A.J.; RIGOBELLO, E.C; FERNANDES, S.A. et al. Diarreia bovina: estudo da etiologia, virulência e resistência a antimicrobianos de agentes isolados de bezerros da região de Ribeirão Preto – sp, *Brasil. Ars Veterinaria, Jaboticabal*, v. 22, n. 1, p.22-30, 2006.
- GARCIA, L.S. & BRUCKNER, D.A. *Diagnostic medical parasitology*. New York (NY): Elsevier; 1988.
- GARCIA, A.M. & LIMA, J.D. Frequência do *Cryptosporidium* em bezerros lactentes de rebanhos leiteiros de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.45, n.2, p.193-198, 1993.
- GARCIA, A.M.; LIMA, J.D. Prevalência de *Cryptosporidium* spp em rebanhos leiteiros de Pará de Minas (MG) e sua relação com práticas de manejo. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v.3, n. 1, p.23-28, 1994.
- GARCÍA, A.; RUIZ-SANTA-QUITERIA, J.A.; ORDEN, J.A. et al. Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. *Comparative Immunology, Microbiology & Infections Diseases*, v. 23, n. 1, p. 175-183, 2000.
- GILES N.; HOPPER S.A.; WRAY C. Persistence of *S. typhimurium* in a large dairy herd. *Epidemiol Infect*, v. 103, n.2, p. 235-241. 1989.
- GIRNUS, D. *Inzidenz und Verlauf von Neugeborenenendurchfall bei Kälbern in einem Praxisgebiet in Oberbayern*, 2004. Veterinary Dissertation, University of Munich.
- GODDEN, S. M. Colostrum management for dairy calves. *Vet. Clin. Food Anim.*, v. 24, p. 19-39, 2008.
- GONÇALVES, R. C.; KUCHEMUCK, M. R. G.; LOPES, R. S. et al. Diarreia em bezerros: estudo clínico e laboratorial. *Vet. Zootec.*, São Paulo, v. 3, p. 35-44, 1991.
- GOOKIN JL, NORDONE SK, ARGENZIO RA. Host responses to *Cryptosporidium* infection. *J Vet Intern Med.*, v. 16, n. 1, p. 12–21, 2002.
- GREEN, S.L.; BOULEY, D.M.; JOSLING, C.A. Cryptosporidiosis associated with emaciation and proliferative gastritis in a laboratory-reared South African clawed frog (*Xenopus laevis*). *Comparative Medicine*, v 53, p. 81–84, 2003.

- GRIEVE, D.G.; WILLOUGHBY, R.A.; STILES, R.P. Effects of level of water and dry matter intake on the incidence of scours in milk replacer fed calves. *Can. J. Anim. Sci.* 52:587, 1972.
- GROUTIDES, C.P.; MICHELL, A.R.. Changes in plasma composition in calves surviving or dying from diarrhea. *British Veterinary Journal*, v.146, p.205-210, 1990.
- GROVE – WHITE, D. H.; WHITE, D. G.. Diagnosis and treatment of metabolic acidosis in calves: A field study. *Veterinary Record*, v.133, n.20, 499-501, 1993.
- GUIMARÃES, L.B; FACURY FILHO, E.J; CARVALHO, A.U. et al. Comportamento da excreção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e de cistos de *Giardia* spp em bezerros infectados naturalmente. *Revista Ciência Animal brasileira*, (Supl.1):660-665, 2009.
- GYLES C. L. AND J. M. FAIRBROTHER *Escherichia coli*, 2010, p. 267-309. In: C. L. Gyles, J.F. Prescott, J. G. Songer and C. O. Thoen (Eds.). Pathogenesis of bacterial infections in animals. Blackwell Publishing, State Avenue, Ames, Iowa.
- GYLES, C. L.; FAIRBROTHER J. M. *Escherichia coli*, 2004, p. 193-214. In C. L. Gyles, J. F. Prescott, J. G. Songer, and C. O. Theon (ed.), Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, 3rd ed. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa.
- GYLES, C.L. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J. Anim. Sci.*, v. 85, p. 45–62, 2007.
- HALL, G. A; JONES, P. W.; MORGAN, J. H. Calf Diarrhea. In: ANDREWS, H. A.; BOYD, H.; BLOWEY, R.W. *Bovine medicine diseases and husbandry of cattle*. Oxford: Blackwell. p. 154-180, 1992.
- HARTMANN, H.; MEYER, H.; STEINBACH, G.. Zur Pathogenese des Kälberdurchfalls mit Schlussfolgerungen Diätmaßnahmen. *Monatshefte Veterinärmedizin*, v.36, p. 371-377, 1981.
- HEINE J.; POHLENZ J.F.; MOON H.W., et al. Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. *J Infect Dis.*, v. 150, n. 5, p. 768–75, 1984.
- HERRING, A.J.; INGLIS, N.F.; OJEH, C.K.; SNODGRASS, D.R.; MENZIES, J.D. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic-acid in silver stained polyacrylamide gels. *Journal of Clinical Microbiology*, v.16, n.3, p.473-477, 1982.
- HOGUE, M.E.; HOPE, V.T.; KJELLSTORM, T.; SCRAGG, R.; L.YEE, R. Risk of giardiasis in Aucklanders; a case control study. *Int. J. Infect. Dis*, 6;191, 2002.
- HOUSE, J.A. Economic impact of rotaviruses and other neonatal disease agents of animals. *J. Am. Vet Med. Assoc.*, v. 173, n. 5, p. 573-576, 1978.
- HOUSE, J. K.; SMITH, B. P. Current strategies for managing *Salmonella* infections in cattle. *Veterinary Medicine*, Lenexa, v.93, n. 8, p. 756-764, 1998.
- HOVE, H.; MORTENSEN, P. B. Colonic lactate metabolism and D-lactic acidosis. *Dig Dis Sci*, v.40, p. 320-330, 1995.

- HUBER, J.T., SILVA, A.G., CAMPOS, O.F., MATHIEU, C.M. Influence of feeding different amounts of milk on performance, health, and absorption capability of baby calves. *J. Dairy Sci.*, v. 67, p. 2957-2963, 1984.
- HUETINK, R.E.C.; VAN D.E.R.; GIESSEN, J.W.B. et al. Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. *Veterinary Parasitology*, v. 102, n. 1-2, p. 53-67, 2001.
- HUNT, E. Symposium on Calf diarrhoea. *Vet Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 1, p.443, 1985.
- ISHIZAKI, H. Persistence of a single electro pherotype and serotype (G6P5) of bovine *Rotavirus* in calves on a closed dairy farm from 1990 to 1993. *American Journal of Veterinary Research*, v. 56, p.1019-1024, 1995.
- JASPER, J. e D.M. WEARY. Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. *J. Dairy Sci.* 85:3054-3058, 2002.
- JEREZ, J. A. et al. Evidenciação de *Rotavirus* através de ensaio imunoenzimático em fezes diarréicas de bezerros. *Revista de Microbiologia*, v. 18, p. 201-204, 1987.
- JONES, S.L.; BLIKSLAGER, A.T. Role of the enteric nervous system in the pathophysiology of secretory diarrhea. *J Vet Intern Med.*, v. 16, n. 3, p. 222-8, 2002.
- KABARA, J.J. Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents-a review. In: Kabara J editor. *The pharmacological effects of lipids*, p. 1-14, 1978.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, I. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animal. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997, 932 p.
- KANECO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical Biochemistry of Domestic Animal. 6th Ed. Elsevier Inc, 2008, 918p.
- KANISTANON. K. *Correlation of Environmental Temperature, Precipitation, and Humidity with Salmonella Culture Results from Cattle in Virginia*. 1997. 69f. TESE (Master of Science in Veterinary Epidemiology) the Faculty of the Virginia-Maryland Regional College of Veterinary, Blacksburg, Virginia.
- KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, v.2, p.123-140. 2004.
- KATIKARIDIS, M. *Epidemiologische Erhebungen zur Kälberdiarrhoe in einem Praxisgebiet in Oberbayern*. 2000, Veterinary Dissertation, University of Munich.
- KELLER, P. Enzyme activities in the dog: tissue analysis, plasma values, and intracellular distribution. *Am. J. Vet. Res.*, v. 42, p. 575-582, 1981.
- KERR, M. G. *Veterinary Laboratory Medicine: clinical Biochemistry and Haematology*. 2. ed., Oxford: Blackwell Science, 2002, 386p.
- KHAN, M. A.; LEE, H. J.; LEE, W. S. et al. Pre- and postweaning performance of Holstein female calves fed milk through step-down and conventional methods. *J. Dairy Sci.*, v.90, p. 876-885, 2007a.
- KHAN, M. A.; LEE, H. J.; LEE, W. S. et al. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. *J. Dairy Sci.*,

v.90, p. 3376-3387, 2007b.

KHOURI, R. H.; PICKERING, F. S. Nutrition of the milk-fed calf I. Performance of calves fed on different levels of whole milk relative to body weight. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 11: 227-236, 1968.

KONTUREK, S.J. MIKOS EM, KRL R, et al: Effect of methylated prostaglandin E2 analogue on insulin secretion in man. *Prostaglandins*. Apr, v. 15, p. 591-602, 1978.

KRAUSE, W.J.; CULLINGFORD, G.L.; FREEMAN, R.H. et al. Distribution of heat-stable enterotoxin/guanylin receptors in the intestinal tract of man and other mammals. *J Anat*, v. 184, n. 2, p. 407-17, 1994.

LALLE, M., E.; POZIO, G.; CAPELLI, F. et al. Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int.J. Parasitol.*, v. 35, n. 2, p. 207-213, 2005.

LANGONI, H.; LINHARES, A.C.; AVILA, F.A. et al. Contribuição ao estudo da etiologia das diarreias em bezerros de aptidão leiteira no Estado de São Paulo, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.41, n.5, p. 313-319, 2004.

LANGRE, S.R. *Comportamiento farmacocinético de la marbofloxacina y de la enrofloxacina em llamas (lama glama)*, 2010. 110 f. Tese (Doutorado em toxicologia e farmacologia), Faculdade de Veterinaria – Universidad Complutense de Madrid.

LAX, A.J.; BARROW, P.A.; JONES, P.W. Current perspectives in Salmonellosis. *Br.Vet.Journal*, v.151, n.4, p.351-377, 1995.

LAY, K.K. *Prevalence of Cryptosporidium, giardia and other gastrointestinal parasites in dairy calves in Mandalay, Myanmar*. 2007. 79p. Tese. Chiang Mai University and Freie Universität Berlin.

LECHOWSKI, R. Changes in the profile of liver enzymes in newborn calves induced by experimental, subclinical acidosis of pregnant cows and osmotic diarrhea. *Vet. Res. Commun., Dordrecht*, v. 20, n. 4, p. 341-365, 1996.

LECHTENBERG, K.F.; NAGARAJA T.G. Hepatic ultrasonography and blood changes in cattle with experimentally induced hepatic abscesses. *American Journal of Veterinary Research*. v.52, n.6, p. 803-809, 1991.

LECHTENBERG, K.F.; NAGARAJA, T.G. Hepatic ultrasonography and blood changes in cattle with experimentally induced hepatic abscesses. *American Journal of Veterinary Research*., v. 52, n 6, p. 803-9, 1991.

LEFAY, D.; NACIRI, M.; POIRIER, P. et al. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. *Veterinary Parasitology*, v.89, n.1, p.1-9, 2000.

LEITE, R.C. *Aspectos Epidemiológicos da coccidiose e condições sanitárias da criação de bezerros até 01 ano de idade. Sete Lagoas, MG*. 1982. 84f. Dissertação (Medicina Veterinária Preventiva). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

- LEVINE, N.D. *Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man*. 2ed. Urbana: Burgess Publishing Company, 1973. 406p.
- LI, J.; ZHANG, N.; YE, B., et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs increase insulin release from beta cells by inhibiting ATP sensitive potassium channels. *Br J Pharmacol.*, v. 151, p. 483–493, 2007.
- LIMA, J. D. Prevalence of coccidia in domestic goat from Illinois, Indiana, Missouri and Wisconsin. *International Goat and Sheep Research*, v. p.234-241, 1980.
- LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. *Rev. Bras. Parasitol.vet.*, v.13, suplemento 1, p. 9-13, 2004.
- LINDQVIST, N; HEINIKAINEN, A.M.; TOIVONEN & PELKONEN, S. Discrimination between endemic and feedborne *Salmonella infantis* infection in cattle by molecular typing. *Epidemiol. Infect.*, 122, pp. 497–504, 1999.
- LORENZ, I. XXIV WORLD BUIATRICS CONGRESS, 2006. *Diarrhoea of the Young Calf: an Update*. Nice, France.
- LUCHINI, N.D.; LANE, S.F.; COMBS, D.K. Preweaning intake and postweaning dietary energy effects on intake and metabolism of calves weaned at 26 days of age. *Journal of Dairy Science*, v. 76, p.255-266, 1993.
- LÚCIA, R.L.; SERTIÉ, J.A.A. *Absorção, biodisponibilidade e bioequicência de fármacos*. In: VALLE, L.B.S., OLIVEIRA, F.R.N., DE LÚCIA, R. et al. *Farmacologia Integrada*. Rio de Janeiro: Ateneu, 1980. p.61-71.
- LUMSDEN, J. H.; MULLEN, K.; ROWE R. Hematology and Biochemistry Reference Values for Female Holstein Cattle. *Can. J. comp. Med.*, v.44, p.24-31, 1980
- MALDONADO-CAMARGO, S.; ATWILL, E.R.; SALTIERAL-OAXACA, J.A. et al. Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein Freisian dairy calves in central México. *Preventive Veterinary Medicine*, v.36, n.1, p.95-107, 1998.
- MAYAMEEI, A.; MOHAMMADI, G.; YAVARI, S. et al. Evaluation of relationship between Rotavirus and Coronavirus infections with calf diarrhea by capture ELISA. *Comparative Clinical Pathology*, v.19, p.553–557, 2010.
- MCEWEN, S.A.; MARTIN, S.W.; CLARKE R.C., et al. A prevalence survey of *Salmonella* in raw milk in Ontario, *J Food Prot* , v. 51, p. 963–965, 1987.
- MCEWEN, S.A.; MARTIN, S.W.; CLARKE R.C. et al. The prevalence, incidence, geographical distribution, antimicrobial sensitivity patterns and plasmid profiles of milk filter *Salmonella* isolates from Ontario dairy farms. *Can J Vet Res.*, v. 52, p. 18–22, 1988.
- MCGUIRK, S. M. Disease management of dairy calves and heifers. *Vet. Clin. Food Anim.*, v.24, p. 139-153, 2008.
- MEBUS, C. A. et al. Calf diarrhea (Scours): Reproduced with a virus from a field outbreak. *University of Nebraska Research Bulletin*, v. 23, p.30-35, 1969.

- MENDONÇA, C.L., LAZARO, N.S., CASTRO, R.S., AFONSO, J.A.B. & HOFER E. Occurrence of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. in calves in the southern Agreste region of the state of Pernambuco, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 16:127-131, 1996.
- MENTSCHER, J.; LEISER, R.; MULLING, C., et al. Butyric acid stimulates rumen mucosa development in the calf mainly by a reduction of apoptosis. *Archives of Animal Nutrition*, v. 55, n.2, p. 85-102, 2001.
- MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. Medicina de laboratório veterinária Interpretação e diagnóstico, 1ª Ed. São Paulo:Rocca Ltda, 1995, 308p.
- MICHELL, A.R.. Understanding fluid therapy. *Irish Veterinary Journal*, v. 37, p.94-103, 1983.
- MICHELL, A.R.. Salt, water and survival: acid test and basic advances in fluid therapy. *Irish Veterinary Journal*, v. 47, p.3-8, 1994.
- MOHLER, V.L.; IZZO, M.M.; HOUSE, J.K. *Salmonella* in calves. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, v. 25, p. 37-54, 2009.
- MONKE DR, KOCIBA GJ, DEJARNETTE M., et al. Reference values for selected hematologic and biochemical variables in Holstein bulls of various ages. *Am J Vet Res* ., v. 59, n. 11, p.1386-91, 1998.
- MOORE R, TZIPORI S, GRIFFITHS JK, et al. Temporal changes in permeability and structure of piglet ileum after site-specific infection by *Cryptosporidium parvum*. *Gastroenterology*, v. 108, n. 4, p. 1030-9, 1995.
- MOORE, J.A.; BLAGBURN, B.L.; LINDSAY, D.S. Cryptosporidiosis in animals including humans. *Compendium continuing education for practicing veterinarian*, v. 10, p.275-282, 1988.
- NACIRI, M.; LEFAY, M.P.; MANCASSOLA, R. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Veterinary Parasitology*, v.85, n.1, p.245-257, 1999.
- NATARO, J.P.; KAPER, B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, v.11, n.1, p.142-201, 1998.
- NAYLOR, J. M.; KRONFELD, D. S.; FREEMAN, D. et al. Hepatic and extrahepatic lactate metabolism in sheep: Effects of lactate loading and pH. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 247, p. 747-755, 1984.
- NAYLOR, J.M.. Oral electrolyte therapy. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.15, n.3, p. 487-504, 1999.
- NILLO, L. Bovine coccidiosis in Canada. *Can. Vet J.*, v.11, n.1, p.91-98, 1970.
- NOCEK, J.E., C.W. HEALD, AND C.E. POLAN. Influence of ration physical form and nitrogen availability on ruminal morphology of growing bull calves. *J. Dairy Sci*, v. 67, p. 334-343, 1984.
- NORONHA JÚNIOR, A.C.F.; BUZETTI, W.A.S. Eimeriose em Búfalos. *Ciências Agrárias e da Saúde*, v. 2, n. 1, p 47-53, 2002.
- OGASSAWARA, S.; CASTRO, J.M.; KASAI, N. et al. *Cryptosporidium* tipo *C.muris* em bovinos do Estado de São

- Paulo. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária. 1989, p.123.
- OLIVEIRA, A.A.; PEDREIRA, P.A.S.; ALMEIDA, M.F.R.S. Doenças de bezerros I: Diarréias bacterianas no Estado de Sergipe, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 41, n. 3, p. 213-222, 1989.
- OLIVEIRA FILHO, J.P.; SILVA, D.P.G.; PACHECO, M.D. et al. Diarréia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 27, n. 10, p. 419-424, 2007.
- OLSEN, J.E.; SKOV, M. Genomic lineage of *Salmonella enterica* serovar Dublin. *Vet Microbiol*, v.40, n. 3, p.271-282. 1994.
- OLSON, M. E. N. J.; GUSELLE, M. E. O.; HANDLEY, M. L. et al. *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in British Columbia. *Can. Vet J.*, v. 38, n. 11, p. 703-706, 1997.
- ORTEGA, Y.R.; ADAM, R.D. *Giardia*: overview and update. *Clinical Infectious diseases*, v.25, p. 545-550, 1997.
- ORTOLANI, E.L.; SOARES, P.C. Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis em *Cryptosporidium* spp. oocystos in cattle and wildlife in Morogoro region, Tanzania. *Preventive Veterinary Medicine*, v.31, n.1, p.185-190, 1997.
- ORTOLANI, E.L.; SOARES, P.C. Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis em becerros de rebaños lecheros. *Parasitol. Latinoam*, v.58, n.3-4, p. 122-127, 2003.
- OSMOLE, O.O.; NAPPERT, G.; NAYLOR, J.M. et al. Both L- and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves. *The Journal of Nutrition*, v.131, p.2128-2132, 2001.
- OTERO, J.L.; MESTORINO, N.; ERRECALDE, J. Enrofloxacin: Una Fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte II: Farmacocinética y toxicidad. *Analecta Veterinaria*. V. 21, p. 42-49, 2001.
- PASQUALI, A.K.S.; BICK, C.; FORNARI, S.P. et al. Infestação por *Eimeria* em bovinos leiteiros em Santa Catarina. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/combravet/2008/anais/cd/resumos.htm>> Acesso em: 20 set 2008.
- PELKONEN, S., ROMPPANEN, E.L., SIITONEN, A. & PELKONEN, J. Differentiation of *Salmonella* serovar *Infantis* isolates from human and animal sources by fingerprinting IS200 and 16S *rrn* loci. *J.Clin. Microbiol.*, 32: 2128-2133, 1994.
- PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R.S.; LEITE, J.P. et al. Comparison of polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), immuno-electron microscopy (IEM) and enzyme immunoassay (EIA) for the rapid diagnosis of rotavirus infection in children. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.78, n.4, p.483-490, 1983.
- PETERSEN, C. D-lactic acidosis. *Nutr Clin Pract*, v. 20, p. 634-645, 2005.
- PHILIPS, R.W.. Fluid therapy for diarrheic calves: what, how and much? *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.15, n.3, p.541-561, 1985.
- POLHENZ, J.; BERMRICK, W.J.; MOON, W.J. et al. Bovine

cryptosporidiosis: a transmission and scanning electron microscopic study of some stages in life cycle and of the host-parasite relationship. *Veterinary Pathology*, v. 15, p. 417-427, 1978.

PRESTWOOD, A.K. Cryptosporidiosis. In: Greene, E.J. *Infections diseases of the dog and cat*. Philadelphia. *W.B.Saunders*, p. 847-853, 1990.

QUIGLEY, J. D.; WOLFE, T. A.; ELSASSER, T. H. Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth and selected blood metabolites in calves. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p. 207-216, 2006.

QUILEZ, J.; SÁNCHEZ-ACEDO, C.; DEL CACHO, E.; CLAVEL A.; CAUSAPÉ A.C. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragón (northeastern Spain). *Vet. Parasitol.* 66, 139-146, 1996.

RADKE, B.R.; MCFALL, M.; RADOSTITS, S.M. *Salmonella* Muenster infection in a dairy herd. *Can. Vet. J.* 43(6), p. 443-453, 2002.

RADOSTITS OM, BLOOD DC, GAY CC. *Veterinary Medicine*. 8th ed. London: Baillière Tindall, 1994, p.730-746.

RADOSTITS, O.M.; GAY C.C.; HINCHCLIFF K.W. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed. W.B. Saunders, London. 2007, 2065p.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.; GAY C.C. *Veterinary Medicine*. 8th ed. London: Baillière Tindall, 1994, 730-746.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. et al. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10 ed. Philadelphia: Elsevier. 2156p, 2007.

RAMIG, R.F. Pathogenesis of intestinal and systemic rotavirus infection. *J Virol.*, v. 78, n. 19, p. 10213-20. 2004.

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

REECE, W.O. Os Rins. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O.O. *Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1996. Cap. 31, p.520-548.

REINHARDT, G. et al. Aetiological diagnosis of neonatal diarrhoea in calves by means of ELISA. *Archivos de Medicina Veterinaria*, v. 23, p. 189-192, 1991.

REYNOLDS, D.; HALL, G.; DEBNEY, T.; PARSONS, K. Pathology of natural rotavirus infection in clinically normal calves. *Research in Veterinary Science*, v.38, p.264-269, 1985.

RIBEIRO, M.G.; LANGONI, H.; JEREZ, J.A.; LEITE, D.S. et al. Identification of enteropathogens from buffalo calves with and without diarrhoea in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 37, n. 2, 2000.

RIGOBELLO, E.C.; GAMEZ, H.J.; MARIN, J.M. et al. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from diarrheic calves. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 3, p. 305-310, 2006.

- ROCHA, T.G.; FRANCIOSI, C.; NOCITI, R.P.; et al.. Concentrações séricas de cálcio, fósforo, magnésio, ferro, sódio e potássio em bezerros mestiços canchim-nelore e da raça holandesa do nascimento aos 30 dias de idade. ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2009. 214 p.
- RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; DOMINGUEZ-ALPIZAR, J.L.; TORRES-ACOSTA, J.F. Epidemiologic factors associated to bovine coccidiosis in calves (*Bos indicus*) in a sub-humid tropical climate. *Rev. Biomed.*, v. 7, n. 1, p. 211-218, 1996.
- ROSOL, T.J.; CAPEN, C.C. 1997. *Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorous, magnesium) metabolism*. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, editors.
- ROUSSEL, J.D.; SEYBT, S.H.; TOUPS, G. Metabolic profile testing for Jersey cows in Louisiana: reference values. *American Journal of Veterinary Research*, v. 43, n. 6, p. 1075-7, 1982.
- ROY, J.H.B. 1980. *The Calf*. 4th ed. Butterworth Publ. Inc., London.
- RUSSELL, K.E.; ROUSSEL, A.J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*, v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007.
- SAIF, L. J.Reoviridae. In: MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. *Fenner's veterinary virology*. 4. ed. London: Academic Press, 2011. Cap. 24, p. 275-291.
- SALPLACHTA J., NECAS J.: Lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in tissues and serum of the calf. *Acta Vet Brno* 2000, **69**, 267-275.
- SALVADORI, M.R.; VALADARES, G.F.; LEITE, D.S. et al. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, n. 1, p. 230-235, 2003.
- SAMPAIO, I.B.M. Estatística Aplicada a experimentação animal. Belo Horizonte: FEPMVZ, 1998, 221p.
- SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; FAYER, R. A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy 74 cattle from birth to 2 years of age. *Veterinary Parasitology*, v.155, n.1, p.15-23, 2008.
- SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BAÜMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. *Am. J. Vet. Res., Schaumburg*, v. 63, n. 8, p. 1145-1150, 2002a.
- SANTOS, R. L.; ZHANG, S; TSOLIS, R. M. et al. Morphologic and molecular characterization of *Salmonella* Typhimurium infection in neonatal calves. *Veterinary Pathology, Washington*, v. 39, n. 2, p. 200-215, 2002b.
- SCHERRER, R. et al. *Reovirus* like agent (*Rotavirus*) associated with neonatal calf gastroenteritis in France. *Annales de Recherche Vétérinaire*, v. 2, p. 25-31, 1976.
- SCOTT, P.R.; HALL, G.A.; JONES, P.W.; et al. Calf diarrhea: In *Bovine Veterinary Medicine. Diseases and Husbandry of Cattle* (ed. By Andrews, A.H.; Blowey, R.W.; Boyed, H. and Eddy, R. G.). 2nd ed. Black Well Publishing Company, Oxford, 2004, p. 185-213.

- SELLIN, J. H. The pathophysiology of diarrhea. *Clinical Transplantation*, v. 15, n. 4, p.2, 2001.
- SHAH, N. M., JHALA, V. M.. Epizootiological investigations on Rotavirus infection in cases of neonatal calf diarrhoea. *Indian Veterinary Journal*, v. 69, p. 5-7, 1992.
- SILPER, B.F. *Efeitos de três estratégias de aleitamento sobre Ganho de peso, desenvolvimento rumenal e perfil Metabólico e hormonal de bezerros holandeses*. Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia. 2012
- SILVA, D.G. *Estudo clínico, laboratorial e terapêutico da diarréia experimental em bezerros induzida por Salmonella enterica subespécie enterica sorotipo Dublin*. 2007. 153p.tese. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Universidade Estadual Paulista.
- SILVA, T. M. A.; OLIVEIRA, R. G.; MOL, J.P.S. et al. Diagnóstico etiológico de aborto infeccioso bovino por PCR. *Cienc. Rural*.vol.39, n.9, p. 2563-2570, 2009.
- SILVA, D.G.; SILVA, P.R.L.; FAGLIARI, J.J. Avaliação clínica da infecção experimental de bezerros com *Salmonella dublin*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n. 1, p. 251-255, 2008.
- SLANINA, L.; BOMBA, A.; LEHOCKÝ, J., et al. Hemoconcentration in calves and its relation to the hematologic, protein, mineral and electrolyte profile. *Vet. Med., Slezska*, v. 29, n. 7, p. 425-434, 1984.
- SMITH, B. P. *Medicina Interna de Grandes Animais*. 3. ed. Barueri-SP: Manole, 2006, 1728p.
- SMITH, H.W.; JONES, J.E. Observations on experimental oral infection with *Salmonella dublin* in calves and *Salmonella choleraesuis* in pigs. *J Pathol Bacteriol*, v.93, n. 1, p. 141-156, 1967.
- SOBIECH P., KULETA Z., STOPYRA A. Serum LDH isoenzyme activity in dairy and beef cows. *Indian Vet J*, v. 81, p. 755-756. 2004.
- SOBIECH, P.; KULETA, Z. Activity of LDH isoenzyme in diarrhoeic calves. *Bull. Vet.Inst. Pulawy, Pulawy*, v. 50, n. 3, p. 401-404, 2006.
- STILES, R.P.; GRIEVE, D.G.; BUTLER, D.G.; WILLOUGHBY, R.A. Effects of fluid intake level and dry matter concentration on the incidence of scours in milk replacer-fed calves. *Can. J. Anim. Sci.*54:73, 1974.
- STYLIADIS, S.; BARNUM, D. PROCEEDING INTERNATIONAL SIMPOSION *SALMONELLA*. *Salmonella muenster* infection in manand animals in the province of Ontario. *Proc Int Symp Salmonella*, New Orleans, p.200–208, 1984.
- TAMINELLI, V, ECKERT J, SYDLER T, et al. Experimental infection of calves and sheep with bovine Giardia isolates. *Schweiz Arch Tierheilkd*, v.13, p.551–64, 1989.
- TENNANT, B.; HARROLD, D. REINAGUERRA, M.. Physiologic and metabolic factors in the pathogenesis of neonatal enteric infections in calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, n. 161, v. 9, p. 993-1007, 1972.

- TEROSKY, T. L.; HEINRICH, A. J.; WILSON, L. L. A comparison of milk protein sources in diets of calves up to eight weeks of age. *J. Dairy Sci.*, v. 80, p. 2977–2983, 1997.
- THOMPSON, J.C., PAULI, J.V. Colostral transfer of gamma glutamyl transpeptidase in calves. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 29, n. 12, p. 223-226, 1981.
- THOMPSON, R. C. A.; REYNOLDS, J. A.; MENDIS, A. H. W. Goardoa and *Giardiasis*. *Advances in Parasitol.*, v. 32, p. 71-160, 1993.
- THOMPSON, R. C. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and *Giardiasis*. *Vet Parasitol.*, v. 126, p. 15-35, 2004.
- THRALL, M.A. Laboratory evaluation of the liver. In: Thrall MA, editor. *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 355–75.
- THRALL, M.A. 2006. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Roca, São Paulo. 582p.
- TODD, C.G.; MILLMAN, D.R.; MCKNIGHT, T.F. Duffield and K. E. Leslie. Nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy for neonatal calf diarrhea complex: Effects on calf performance. *J ANIM SCI*. v. 88, p. 2019-2028, 2010.
- TORRES-MEDINA A.; SCHLAFER, D.H.; MEBUS, C.A. Rotaviral and coronaviral diarrhea. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*; v.1, n. 3, p. 471–93. 1985.
- TRAŞ, B.; MADEN, M.; BAŞ, L.; et al. Investigation of biochemical and haematological side-effects on enrofloxacin in dogs. *J. Vet. Med. A*, 48, 59-63, 2001.
- TROTZ-WILLIAMS, L.A.; MARTIN, S.W.; LESLIE, K.E. et al. Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, v.82, n.1, p.12-28, 2007.
- TZIPORI, S. Cryptosporidiosis in perspective. *Advance in Parasitology*, v. 27, p. 63-129, 1988.
- TZIPORI, S.; ANGUS, K.W.; CAMPBELL, I., et al. Experimental infection of lambs with *Cryptosporidium* isolated from a human patient with diarrhoea. *Gut*; v.23, n. 1, p. 71–4, 1982.
- TZIPORI, S.; CAMPBELL, I.; SHERWOOD, D. et al. An outbreak of calf diarrhea attributed to cryptosporidial infection. *Veterinary Record*, n. 107, p. 579-580, 1980.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4ed. Tokio: Japan International Cooperation Agency, 1998. p.14-28.
- UGA, S.; MATSUO, J.; KONO, E. et al. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. *Veterinary Parasitology*, v.94, n.1, p.27-32, 2000.
- URIBARRI, J.M.S.; CARROL, H.J. D-lactic acidosis – a review of clinical presentation, biochemical features, and pathophysiologic mechanisms. *Medicine* (Baltimore), p. 73-77, 1998.
- URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L. et al. *Parasitologia Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.201-202.

- UZZAU, S.; BROWN, D.J.; WALLIS, T., et al. Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. *Epidemiol Infect*, v. 125, n. 2, p. 229-255. 2000.
- WALTMAN, W.D. Methods for the cultural isolation of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. *Salmonella in Domestic Animals*. 1. ed. London: CABI Publishing, 2000. Cap.21, p.355-372.
- WELLS, S.; FEDORKA-CRAY, P.J.; BESSER, T. coli O157 and *Salmonella* — status on U.S. dairy operations. *National Animal Health Monitoring System Dairy '96 Study*. http://www.aphis.usda.gov:80/vs/ceah/cahm/Dairy_Cattle/ecosalm98.htm
- WRAY, C.; SOJKA, W.J. *Salmonella dublin* infection of calves: use of small doses to simulate natural infections on the farm. *J. Hyg.*, v.87, n.1, p.501-509, 1981
- WRAY C.; WADSWORTH, Q.C.; RICHARDS, D.W. A three-year study of *Salmonella* Dublin infection in a closed dairy herd. *Vet Rec*, v. 124, n.20, p.532-537, 1989.
- WRAY C, WRAY A. *Salmonella in Domestic Animals*, 2000.CAB International Wallingford, UK.
- WRAY, C.; DAVIES, R.H. *Salmonella* Infections in Cattle. In: WRAY, C.; WRAY, A. *Salmonella in Domestic Animals*. 1ed. London: CABI Publishing, 2000. Cap. 10, p.169-190.
- ZANKER I.A., HAMMON H.M. & BLUM J.W.. Activities of glutamyltransferase, alkaline phosphatase and aspartate-aminotransferase in colostrum, milk and blood plasma of calves fed first colostrum at 0-2, 6-7, 12-13 and 24-25 h after birth. *J. Vet. Med. A*, *Physiol.Pathol. Clin. Med*, v. 48, n. 3, p. 179-185, 2001.
- ZARRILLI, A.; MICERA, E.; LACARPIA, N.; LOMBARDI, P.;PERO, M. E.; D'ANGELO, D.; MATTIA, M.; AVALLONE, L. Evaluation of goat colostrum quality by determining enzyme activity levels. *Livestock Production Science*, v. 83, n. 2, p. 317-320, 2003.
- ZHANG M, ZENG CQ, MORRIS AP, et al. A functional NSP4 enterotoxin peptide secreted from rotavirus-infected cells. *J Virol*, v. 74, n. 24, p. 11663-70, 2000.