

Ocorrência dos principais agentes bacterianos e parasitários em fezes diarreicas de bezerros búfalos nos estados de São Paulo e Paraná

Occurrence of the main bacterial and parasite agents on diarrhetic feces of buffalo calves in the states of São Paulo and Paraná

Lilian Gregory^{1*}, Rodolfo Santos Rossi¹, João Padilha Gandara Mendes¹, Natalie Neuwirt², Eduardo Carvalho Marques¹, Priscila Anne Melville², Bruno Moura Monteiro¹

RESUMO: A população de bubalinos estimada no Brasil é de aproximadamente 3 milhões de animais, encontrando-se distribuídos em todos os Estados brasileiros, com crescimento médio anual de 12%. Apesar disso, os trabalhos realizados buscando os avanços na bubalinocultura são escassos. Em função da complexidade etiológica da diarreia em bubalinos e da falta de informações recentes nesta área, o presente estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência dos principais agentes bacterianos e parasitários envolvidos na diarreia de bezerros búfalos lactentes, de explorações leiteiras semi-intensivas e intensivas em regiões dos estados de São Paulo e Paraná. De março de 2010 a junho de 2011, foram colhidas 53 amostras para exame coproparasitológico e 46 amostras para o exame bacteriológico de animais com quadro de diarreia nos municípios paulistas de São João da Boa Vista, Dourado, Pirassununga, Registro, Pariquera Açu, Pilar do Sul e uma propriedade no estado do Paraná, município de Santana do Itararé. No exame parasitológico, 45,28% (24) foram positivos para *Eimeria* spp., 26,42% (14) para Strongyloidea e 1,88 (1) para *Toxocara vitulorum*. No exame bacteriológico, 97,83%, (45) das amostras foram positivas para *E. coli*, contudo, somente duas foram consideradas patogênicas (*E. coli* STEC). Em uma amostra (2,17%) isolou-se *Klebsiella pneumoniae*; já a presença de *Salmonella* spp. não foi constatada. Para o presente estudo, a presença de endoparasitas foi bastante relevante, principalmente os casos *Eimeria* spp., sendo a higiene das instalações e falhas de manejo fatores importantes na ocorrência de diarreia em bezerros búfalos no estado de São Paulo.

PALAVRAS-CHAVES: búfalo; diarreia; *E. coli*; *Eimeria* spp.; endoparasitas.

ABSTRACT: There are about 3 million buffalos in Brazil, spread through all of the Brazilian states; with mean annual growth of 12%. In spite of that, to the best of our knowledge few studies looking for advances in the industry have been done. Due to the etiological complexity of buffalo diarrhea and the lack of information in this area, this aimed at developing a clinical evaluation on the causes of buffalo calves bacterial and parasitical diarrhea in dairy farms of the states of São Paulo and Paraná. The survey was done in farms located in the cities of São João da Boa Vista, Dourado, Pirassununga, Registro, Pariquera Açu, Pilar do Sul (SP), and Santana do Itararé (PR). From March, 2010, to June, 2011, 53 diarrhea samples were collected and screened for endoparasite and bacteria; 45.28% (24) were positive for *Eimeria* spp.; 26.42% (14) had Strongyloidea; and 1.88% (1) had *Toxocara vitulorum*. In the bacteriological test, 97.83% (45) had *E. coli*, but only two were considered pathogenic (*E. coli* STEC); 2.17% had *Klebsiella pneumoniae* and none presented *Salmonella* spp. In this study, the mainly causative agent of buffalo diarrhea was *Eimeria* spp., and the poor hygiene in installations and breeding failure are important factors on this diarrhea occurrence.

KEYWORDS: water buffalo; diarrhea; *E. coli*; *Eimeria* spp.; endoparasites.

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

²Laboratório de Bacteriologia e Micologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal; USP – São Paulo (SP), Brasil.

*Autor correspondente: lgregory@usp.br

Recebido em: 01/11/2012. Aceito em: 06/03/2014.

INTRODUÇÃO

A bubalinocultura é uma atividade em crescimento em todo o Brasil (MAPA, 2006), impulsionada pela valorização do leite de búfala na indústria de produtos lácteos e pela valorização do leite decorrente de sua composição rica em sólidos totais. A carne de búfalo também possui características nutricionais ímpares, como os teores de proteína de alto valor biológico, a presença de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais, e os aspectos sensoriais desejáveis (OLIVEIRA, 2005).

Segundo dados mais recentes da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2004), o Brasil apresentava um rebanho bubalino de 1.200.700 cabeças em 2004. Já os dados do Censo agropecuário (IBGE, 2003) apresentam valores do efetivo do rebanho bubalino de 1.149 mil cabeças, sendo que esses animais se distribuem pelas cinco regiões do país, nas seguintes quantidades/proporções: Norte, 722.299, 62,9%; Nordeste, 106.117, 9,2%; Sudeste, 104.449, 9,1%; Sul, 151.071, 13,2%; e Centro-Oeste, 64.872, 5,6%. Entretanto, segundo a Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (ABCB, 2013), a população de bubalinos estimada no Brasil é de aproximadamente 3 milhões de animais, com crescimento médio anual de 12% (SILVA *et al.*, 2003), porém, os trabalhos realizados buscando os avanços na bubalinocultura são escassos.

Os bezerros bubalinos têm grande importância dentro da propriedade, uma vez que a continuidade e a melhoria do rebanho dependem deles. Altas taxas de mortalidade de bezerros influenciam diretamente a rentabilidade da atividade, quer seja o rebanho, direcionado para a produção de carne ou leite (ESCRIVÃO *et al.*, 2005).

As maiores taxas de mortalidade em búfalos são registradas em animais com até seis meses de idade, sendo a diarreia neonatal dos bezerros uma das principais causas dessas perdas (BENESI, 2004). Os enteropatógenos mais frequentemente envolvidos incluem bactérias, com destaque para *Escherichia coli* enterotoxigênica e *Salmonella* spp.; os vírus, especialmente, rotavírus e coronavírus; helmintos e protozoários, principalmente dos gêneros *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp. e *Toxocara vitulorum* (BRANDÃO *et al.*, 2007).

A salmonelose é uma das mais importantes enfermidades envolvendo quadros de diarreia (HOUSE *et al.*, 2001), sendo o sorotipo *S. dublin* o mais frequentemente isolado em búfalos (LÁU, 1999). Em bezerros bubalinos, as salmoneloses podem ser responsáveis por 13 a 14% do total de casos de diarreia, com taxa de mortalidade variando de 40 a 72% (FAGIOLO *et al.*, 2005). A principal porta de entrada para a infecção é a cavidade oral, através da ingestão de água e alimentos contaminados. Os principais sinais clínicos da salmonelose são febre, desidratação e diarreia, sendo que esta é profusa, aquosa e fétida, com presença de muco e sangue. Nos casos em que as endotoxinas bacterianas são absorvidas, a diarreia é acompanhada de febre, dor abdominal, apatia, anorexia, fraqueza e taquipneia; o animal pode morrer dentro de quatro a sete dias (FAGIOLO *et al.*, 2005).

A infecção por *Escherichia coli* é outra causa significativa dentro do quadro diarreico, sendo os bezerros os mais acometidos no rebanho, o que leva a importantes danos econômicos na pecuária. *E. coli* é um dos micro-organismos considerados como habitantes natural da flora microbiana do trato intestinal de humanos e da maioria dos animais. Por isso, é normalmente encontrado nas fezes destes, e muitas destas cepas de *E. coli* não são patogênicas (BERGEY'S, 1994; TARR, 1994).

A diferença entre a habilidade de algumas amostras de *E. coli* causarem doenças e síndromes causadas por vários sorotipos pode ser atribuída à existência de genes específicos que codificam fatores de virulência e à capacidade de transferência genética da *E. coli* (DONNENBERG, 2002). Atualmente, são reconhecidos os seguintes patótipos de *E. coli*: *E. coli* enteropatogênicas (EPEC) típicas e atípicas (EPECa), *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasoras (EIEC), *E. coli* produtora da toxina de Shiga (STEC), sendo a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) considerada um subtipo de STEC, *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* necrotoxigênica (NTEC) e *E. coli* uropatogênica (UPEC). As cepas desses grupos apresentam mecanismos de patogenicidade específicos, sorotipos distintos, e podem causar infecções e diferentes síndromes (MAINIL, 1999).

As principais doenças endoparasitárias que acometem os búfalos são ascariíose, paracooperiose, coccidiose e fasciolose (BHATIA, 1992), sendo que os ovos desses helmintos podem ser detectados e identificados através de exames de fezes, a partir dos nove dias de idade. O bezerro parasitado fica apático, apresenta uma pelagem grosseira, perda de apetite e de condição corporal, edema e desordens gastrintestinais com ou sem diarreia (STARKE *et al.*, 1983; SUKHAPESNA, 1992). A espécie *Eimeria bareillyi* foi a primeira a ser identificada na cultura de fezes dos bezerros. Posteriormente, também foram identificadas outras espécies de *Eimeria* já descritas na literatura parasitando bubalinos (BASTIANETTO *et al.*, 2008). Infecções precoces por este parasito podem ser responsáveis pela infecção bacteriana secundária através das lesões intestinais que ele causa. A utilização de medicação profilática e terapêutica específica para a coccidiose em bubalinos é necessária para o bom desenvolvimento e sobrevivência dos animais (BASTIANETTO *et al.*, 2008).

MAGDOUB *et al.* (1999) demonstraram a influência das condições climáticas na prevalência de infecções por helmintos, *Fasciola gigantica* e *Eimeria* sp., em búfalos. Encontrou-se alta correlação entre a época do ano e a infecção nos animais, sendo que estes apresentavam maiores taxas de infecção no verão. As seguintes espécies de *Eimeria* foram descritas em bubalinos: *E. alabamensis*, *E. alburnensis*, *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. brasiliensis*, *E. bukidonensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. ovoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* e *E. zurnii* (BHATIA, 1992; GRIFFITHS, 1974). No Brasil, CABRAL (1987) descreveu as espécies *E. alburnensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* e *E. zuernii* em bubalinos. As espécies *E. ellipsoidalis*, *E. zuernii*

e *E. wyomingensis* foram as mais frequentes, sendo diagnosticadas durante todo o ano. *E. ellipsoidalis* predominou durante cinco meses do estudo, e permaneceu com altos índices nos meses de janeiro e fevereiro. *E. zuernii* foi a espécie predominante durante quatro meses do ano, e *E. wyomingensis* não predominou em nenhuma ocasião. As espécies *E. canadensis* e *E. subspherica* não foram encontradas de setembro a dezembro. A espécie *E. subspherica* apresentou índice de frequência mais alto no mês de março, e seus índices apresentaram flutuações nos outros meses. As faixas etárias que apresentaram maior prevalência de *Eimeria* spp. foram de 4-6 meses e 10-12 meses. RIBEIRO *et al.* (2000) encontraram prevalência de 100% de *Eimeria* spp. parasitando búfalos, com e sem diarreia, com idades entre 3 e 45 dias, criados no Vale do Ribeira, no estado de São Paulo. Foi diagnosticada maior prevalência de *Eimeria* spp. em animais com três semanas de idade. Com base em exames realizados em búfalos da raça Jafarabadi a partir do nascimento dos animais, no ano de 2003, BASTIANETTO (2006) diagnosticou oocistos de *Eimeria* spp. nas fezes a partir dos oito dias de idade. A maior concentração de oocistos foi encontrada no segundo mês de vida. Não foi diagnosticada a presença de oocistos de *Eimeria* spp. em animais com idade superior aos 160 dias. Este mesmo estudo descreve dois episódios de mortalidade, de 5 e 13 búfalos jovens em uma mesma propriedade, ocorridos, respectivamente, nas primaveras de 2004 e 2005. A contagem média de oocistos por grama de fezes, de bezerros que sobreviveram no ano de 2004, foi 1.500.000 oocistos da espécie.

Toxocara vitulorum é um parasita pertencente à classe Nematoda, superfamília Ascaridoidea e família Ascarididae. Este nematoide é citado no Paquistão, Ceilão (atual Sri Lanka), Índia, Malásia, Egito, Filipinas, Tailândia e Brasil como sendo o principal agente parasitário causador da mortalidade de bubalinos jovens (WARREN, 1970). O *T. vitulorum* adulto parasita a primeira porção do intestino delgado de ruminantes (SMITH, 1994), e principalmente de búfalos d'água (*Bubalus bubalis*) (ROBERTS, 1989). Este parasita está em primeiro lugar na ordem de prevalência e patogenicidade para bezerros búfalos bem jovens, nos primeiros quatro meses de vida (PATNAIK; PANDE, 1963; STARKE *et al.*, 1983). Da mesma forma, a incidência do *T. vitulorum* nos ruminantes é muito alta. Com base nos resultados de ROCHA; SANTOS (2009), os bezerros Jersey apresentam alta resistência ao parasitismo por *T. vitulorum*, não permitindo a dispersão de ovos no meio ambiente. Por outro lado, os bezerros búfalos mostraram melhor relação hospedeiro-parasita.

Em função da complexidade etiológica da diarreia em bubalinos e da escassa literatura brasileira nesta área, o presente estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência dos principais agentes bacterianos e endoparasitários em amostras fecais de bezerros búfalos (com até seis meses) em aleitamento e que apresentavam quadros diarreicos. As propriedades de exploração leiteira em sistema intensivo e semi-intensivo estavam localizadas nos estados de São Paulo e Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste estudo, foram selecionadas sete propriedades leiteiras em regime semi-intensivo e intensivo no estado de São Paulo, incluindo os municípios de: São João da Boa Vista, Dourado, Pirassununga, Registro, Pariqueira Açu, Pilar do Sul; e uma propriedade no estado do Paraná, no município de Santana do Itararé.

Em cada propriedade foram feitas visitas às instalações para inspeção e caracterização dos piquetes maternidade e manejo das vacas e bezerros recém-nascidos. Foram selecionados bezerros de até seis meses de idade, os quais apresentavam manifestação clínica de diarreia durante o período de março de 2010 a junho de 2011.

Foram colhidas em sacos plásticos, diretamente da ampola retal, 59 amostras de fezes dos animais, assim como 46 amostras com auxílio de suabe em meio de cultura específico para *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. (meio de cultura com ágar e tioglicolato de sódio). As amostras, depois de colhidas, foram refrigeradas a 4°C. A cepa de *Salmonella* Dublin (registro IOC 3101/03) foi cultivada de acordo com as recomendações de WRAY; SOJKA (1981) e quantificada pela técnica de MILES; MISRA (1938). A coleta de suabes retais dos bezerros, para avaliar a presença da *Salmonella* Dublin, foi realizada antes da inoculação e, a partir daí, diariamente até a constatação de dois resultados negativos consecutivos, com intervalo de 15 dias, conforme sugerido por ANDREWS *et al.* (2008). Os suabes retais eram enriquecidos em caldo selenito-cistina (CM0699, Oxoid), caldo tetrationato Muller-Kauffmann (CM0343, Oxoid) e caldo Rappaport-Vassiliadis (CM0866, Oxoid), e plaqueados em ágar verde brilhante modificado (CM0329, Oxoid), contendo 50 µg/mL de ácido nalidíxico, como preconizado por SANTOS *et al.* (2002). Colônias com morfologia característica do gênero *Salmonella* foram submetidas a testes bioquímicos, utilizando-se ágar triplice açúcar ferro (TSI) (CM0277, Oxoid) e ágar lisina ferro (LIA) (CM0381, Oxoid). Após a comprovação bioquímica, foi realizada soroglutinação em lâmina, utilizando-se soro polivalente antiantígenos somáticos (anti-O) de *Salmonella* (Probac do Brasil) e soro antiantígenos somáticos do sorogrupo D (Probac do Brasil), no qual se inclui *S. Dublin*. Para isolamento de *E. coli*, as amostras fecais foram cultivadas em ágar sangue, MacConkey e *tetrathionato broth base*. Os micro-organismos isolados passaram por processo de identificação através de suas características morfológicas e bioquímicas. O diagnóstico de helmintoses e eimeriose foi realizado pela técnica flutuação e contagem dos ovos por grama de fezes (OPG) em câmara MacMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939).

Este trabalho foi realizado conforme os princípios éticos da experimentação animal estabelecidos pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, conforme consta em declaração emitida pela presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais, em 24 de abril de 2014.

RESULTADOS

Durante os testes bacteriológicos, foram isoladas as bactérias *Escherichia coli* em 97,8% (45/46) das amostras, e *Klebsiella pneumoniae* em uma amostra, sendo que não houve o isolamento de *Salmonella* spp. (Tabela 1).

No exame coproparasitológico, a ocorrência de amostras positivas foi de 45,28% (24/53) e 26,42% (14/53) para *Eimeria* spp. e *Strongyloidea*, respectivamente. Observou-se, ainda, uma amostra positiva para *Toxocara vitulorum*, representando 1,89% (1/53) (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Em bezerros bubalinos criados em condições sanitárias precárias, a eimeriose é bastante comum e de magnitude suficiente para causar doença, podendo ser considerada como um indicador da higiene local. Esta parasitose, quando resulta em infecção aguda, é caracterizada por enterite, com fezes líquidas e sanguinolentas, e pela intensa inflamação na mucosa intestinal, podendo ocorrer até sinais clínicos de comprometimento neurológico em bovinos. Ressalta-se que, no presente trabalho, a presença de sangue foi evidenciada nas amostras em diversos casos nos quais o agente foi diagnosticado.

Na eimeriose, segundo BASTIANETTO *et al.* (2008), os sinais clínicos ocorrem comumente em animais com altas contagens de OPG (de 10.000 a 27.000). Nesta pesquisa, a contagem alta de OPG para *Eimeria* sp. foi registrada em três propriedades nos municípios de Registro, Parquera Açu e Pilar do Sul, sendo impossível contabilizar o número de oocistos. Nas duas primeiras, a infestação foi disseminada em todas as amostras e, na última, somente estava presente em duas de um total de sete amostras estudadas.

Como descrito por BHATIA (1992) e LÁU (1999), a alta carga de infestação por *Eimeria* spp. nos animais provoca alterações intestinais seguidas de diarreia com muco ou sangue, desidratação,

pelos arrepiados, baixa conversão alimentar, anemia, debilidade e perda de peso, o que está diretamente correlacionado com as condições de higiene local. Ao avaliar os resultados desta pesquisa, foi possível verificar que a presença de *Eimeria* spp. foi provavelmente a responsável pelo quadro diarreico nos animais, principalmente aqueles com alta contagem no OPG deste protozoário.

RIBEIRO *et al.* (2000) encontraram prevalência de 100% de *Eimeria* spp. parasitando búfalos, com e sem diarreia, com idades entre 3 e 45 dias criados no Vale do Ribeira, estado de São Paulo. Em pesquisa desenvolvida por BASTIANETTO (2002), foi diagnosticada maior prevalência de *Eimeria* spp. em animais com três semanas de idade, o que está de acordo com a idade dos animais deste estudo, que possuíam menos de um mês.

A ocorrência de eimeriose como agente causador de diarreia está relacionada à suscetibilidade dos animais, podendo depender de predisposição genética, resistência imunológica inata ou adquirida, nível de estresse, manejo, desmama, fatores climáticos ambientais, entre outros. As principais espécies já identificadas acometendo os bubalinos são: *Eimeria zuernii*, *E. bovis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis*, *E. subspherica*, *E. bareillyi*, *E. canadensis*, *E. ankarensis* e *E. bukidonensis* (NORONHA JR. *et al.*, 2002).

Ao analisar a porcentagem de animais positivos para a eimeriose entre aqueles apresentando quadro de diarreia, encontraram-se 45,28% de ocorrência nas amostras e, deste total, 22,22% possuíam alta contagem no OPG. Por esta razão, conclui-se que, para esta pesquisa, a eimeriose tem significado importante na presença ou não de diarreia, apesar de alguns autores relatarem que ela pode ocorrer nas fezes de búfalos sem manifestar sinais clínicos (BHATIA, 1992; LÁU, 1999).

Durante os testes utilizados para isolar *Escherichia coli*, observou-se ocorrência de 97,8% nas amostras analisadas, sendo que, após tipificação, somente duas destas apresentaram cepas patogênicas (*E. coli* STEC).

A presença de *Escherichia coli*, porém, não permite afirmar que o quadro diarreico observado seja causado por ela, uma vez que este micro-organismo é tido como habitante natural da flora microbiana do trato intestinal de búfalos e

Tabela 1. Resultado do exame bacteriológico de bezerros búfalos com quadro de diarreia nos estados de São Paulo e Paraná. Realizado no período de 2010/2011.

| Bacteriológico | Positivo | Negativo | Total de Amostras | Ocorrência (%) |
|------------------------------|----------|----------|-------------------|----------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 45 | 1 | 46 | 97,83 |
| <i>Salmonella</i> spp. | 0 | 46 | 46 | 0 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 | 45 | 46 | 2,17 |

Tabela 2. Resultado do exame coproparasitológico (OPG) de bezerros búfalos com quadros de diarreia nos estados de São Paulo e Paraná. Realizado no período de 2010/2011.

| Parasitológico | Positivo* | Negativo | Total de Amostras | Ocorrência (%) |
|---------------------------|-----------|----------|-------------------|----------------|
| <i>Eimeria</i> spp. | 24 | 29 | 53 | 45,28 |
| <i>Strongyloidea</i> | 14 | 39 | 53 | 26,42 |
| <i>Toxocara vitulorum</i> | 1 | 52 | 53 | 1,89 |

*Amostras positivas segundo UENO; GONÇALVES (1998).

da maioria dos animais, sendo, portanto, comumente encontrado nas fezes. Assim, no presente trabalho, é improvável que a *E. coli* seja a principal causa de diarreia em bezerros búfalos.

Segundo BRAZ (2000), em um levantamento epidemiológico na região do Vale do Ribeira, São Paulo, a bactéria *Klebsiella pneumoniae* foi isolada no trato gastrointestinal de bezerros búfalos com diarreia e em animais sadios, demonstrando que este micro-organismo pode estar presente na microflora entérica. AMROUSI et al. (1971) e ISMAIL et al. (1990), no Egito, e VERMA; KARLA (1975), na Índia, em estudo com búfalos, observaram alta ocorrência de *E. coli* associada com *Klebsiella* sp. Neste estudo, *K. pneumoniae* foi isolada em uma amostra, contudo, não havia associação com *E. coli*, sugerindo ser a *Klebsiella* o patógeno responsável pela manifestação do quadro clínico. Esta amostra foi colhida no município de São João da Boa Vista, no estado de São Paulo. Porém, devido ao fato de somente uma amostra apresentar-se positiva para *Klebsiella*, é improvável que este seja o principal agente causador de diarreia.

Em bezerros bubalinos, as salmoneloses podem ser responsáveis por 13 a 14% do total de casos de diarreia, com taxa de mortalidade variando de 40 a 72%, segundo FAGIOLO et al. (2005). Porém, a casuística encontrada nas diversas regiões onde foram realizadas as coletas foi nula, não sendo isolado em nenhuma amostra. Uma das possibilidades para que este agente não tenha sido encontrado nas amostras pode ser a idade dos animais estudados, com menos de um mês de vida. Segundo AMROUSI et al. (1971) e, posteriormente, ISMAIL et al. (1990), a *Salmonella* spp. é mais comumente observada em bezerros de búfalos após a quarta semana de vida. Ao confrontarmos com a literatura, nota-se que, dependendo da região, as opiniões são divergentes no que se refere

à diarreia de búfalos. Trabalhos mais antigos relatam a presença de salmonelose nos rebanhos, o que não foi encontrado nesta pesquisa, assim como por BRAZ (2000), em pesquisa realizada no estado de São Paulo, segundo o qual a idade, novamente, foi um fator determinante, visto que os animais selecionados para o estudo apresentavam até 45 dias de vida.

Considerando o *Toxocara vitulorum*, apenas uma amostra (1,89%) foi positiva. Apesar da alta prevalência e patogenicidade deste parasita para bezerros búfalos jovens nos primeiros quatro meses de vida (PATNAIK; PANDE, 1963; STARKE et al., 1983), sua baixa ocorrência no presente estudo torna improvável que seja o principal agente causador de diarreia em búfalos no estado de São Paulo.

CONCLUSÃO

Esta pesquisa demonstra a situação da diarreia nos bezerros búfalos em várias regiões importantes de criação nos estados de São Paulo e Paraná, sendo que, de acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a *Eimeria* spp. seja o provável agente causador da diarreia. Neste âmbito, a higiene das instalações e as falhas de manejo são consideradas fatores de grande importância para a ocorrência de quadros clínicos de diarreia em bezerros búfalos. Foi constatado, também, que há a presença de *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli* STEC, contudo, devido à baixa frequência, é improvável que estes sejam os agentes causadores de diarreia. Já a *Salmonella* spp. não foi um agente patogênico importante nos rebanhos bubalinos do estado de São Paulo em animais com até um mês de vida.

REFERÊNCIAS

- AMROUSI, S.E.L.; NAFIE, E.K.; REHEWI, M.E.L.; MOTTILIB, A.A. Studies on enteritis in buffalo calves in Assiut. *Journal of Egypt Veterinary Medical Association*, v.31, n.3/4, p.219-25, 1971.
- ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H.; EDDY, R.G. *Medicina bovina: doenças e criação de bovinos*. 2a. ed. São Paulo: Roca. 2008. 1080p.
- Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. ABCB. Disponível em: <http://www.bufalo.com.br/abcb.html>. Acesso em 05 mar. 2014.
- BASTIANETTO, E.; BARBOSA, V.M.; LEITE, R.C. Evaluation of the different avermectin bases in the control of *Haematopinus tuberculatus*. In: SIMPÓSIO DE BÚFALO DAS AMÉRICAS, 1, 2002, Belém. *Anais...* Belém: [s.n.], 2002.
- BASTIANETTO, E. *Helminthoses de bubalinos no município de Dores do Indaiá – Minas Gerais, Brasil*. 2006. 54f. Tese (Mestrado) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.
- BASTIANETTO, E.; FREITAS, C.M.V.; BELLO, A.C.P.P.; CUNHA, A.P.; DALLA ROSA, R.C.; LEITE, R.C. Primeiro diagnóstico de *Eimeria bareillyi* (APICOMPLEXA: EIMERIDAE) nas fezes de bezerros bubalinos (*Bubalus bubalis*) naturalmente infectados no Estado de Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, Supl.1, p.234-238, 2008.
- BHATIA, B.B. Parasites of river buffaloes. In: TULLOH, N.M.; HOLMES, J.H.G. *Buffalo Production*. Amsterdam: FAO, 1992. p.309-310.
- BRANDÃO, PE.; VILLARREAL, L.Y.B.; SOUZA, S.L.P.; RICHTZENHAIN, L.J.; JEREZ, J.A. Mixed infections by bovine coronavirus, rotavirus and cryptosporidium parvum in outbreak neonatal diarrhea in beef cattle. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v.74, n.1, p.33-34, 2007.
- BENESI, F.J. Principais enfermidades de bezerros neonatos. Como diagnosticá-las e tratá-las? 2004. Disponível em: <http://embryosys.com.br/novo/pagina.php?pagina=artigos&id=37>. Acesso em 05 mar. 2014.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9a. ed. Willians & Wilkings. 1994, 787p.

- CABRAL, D.D. *Ocorrência de coccídios em búfalos da micro-região de Uberlândia, Minas Gerais*. 1987. 62f. Tese (Mestrado) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1987.
- DONNENBERG, M.S. *Escherichia coli: virulence mechanisms of a versatile pathogen*. California: Academic Press, 2002. 416p.
- ESCRIVÃO, S.C.; BASTIANETTO, E.; NASCIMENTO, E.F.; GHELLER, V.A.; AMARAL, F.R.; SERRANO, A.L. Primeiros cuidados na criação de bezerras bubalinas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.29, n.1, p.46-48, 2005.
- FAGIOLO, A.; RONCORONI, C.; LAI, O.; BORGHESE, A. Buffalo Pathologies. In: BORGHESE, A. *Buffalo Production and Research*. Roma: FAO, 2005. p.249-296.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT. Data Base 2004. Disponível em: <http://faostat.fao.org/faostat/collections?Version=ext&hasbulk=0>. Acesso em 14 ago. 2005.
- GORDON, H.McL; WHITLOCK, A.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research*, v.12, p.50-52, 1939.
- GRIFFITHS, R.B. In: COCKRILL, W.R. *The Husbandry and Health of Domestic Buffalo*. Roma: FAO, 1974. p.236-275.
- HOUSE, J.K.; ONTIVEROS, M.M.; BLACKMER, N.M.; DUEGER, E.L.; FITCHORN, J.B.; McARTHUR, G.R.; SMITH, B.P. Evaluation of an autogenous Salmonella bacterin and a modified live Salmonella serotype Choleraesuis vaccine on a commercial dairy farm. *American Journal of Veterinary Research*, Schaumburg, v.62, p.1897-1902, 2001.
- IBGE. Diretoria de Pesquisas, Coordenação e Agropecuária. *Pesquisa da Pecuária Municipal 2003*. Disponível em www.ibge.gov.br. Acesso em 25 out. 2005.
- ISMAIL, M.; GIRGIS, S.M.; EL-JAKEE, J.; SHOKRY, S.; RIAD, E.M. Bacteriological studies on the diarrhea in newly born buffalo calves. *Veterinary Medical Journal Giza*, v.38, p.219-32, 1990.
- LÁU, H.D. *Doenças dos Bezerras. Doenças em búfalos no Brasil: diagnósticos, epidemiologia e controle*. 1ª ed. Brasília: EMBRAPA-DPI, 1999. p.23-56.
- MAGDOUB, A.A.; SAYED, I.A.; MANDY, A.E. Relationship between system of raising Egyptian buffaloes and effect of climate conditions on the helminthic infection rate, middle delta, Egypt. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, v.29, n.2, p.505-515, 1999.
- MAINIL, J. Shiga/verocytotoxins and Dhiga/verotoxigenic Escherichia coli in animals. *Vet. Res.* V. 30, p. 235-257, 1999.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/page/mapa/estatisticas/pecuaria/3.7.xls>. Acesso em 05 mar. 2014.
- NORONHA JR., A.C.F.; BUZETTI, W.A.S. Eimeriose em búfalos. *Ciências Agrárias e da Saúde*, Andradina, v.2, n.1, p.47-53, 2002.
- OLIVEIRA, A.L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.29, n.2, p.122-134, 2005.
- PATNAIK, M.M.; PANDE, B.P. Notes on helminthic infestations encountered in one month old buffalo calves. *Indian Veterinary Journal*, v.40, p.128-33, 1963.
- RIBEIRO, M.G.; LANGONI, H.; JEREZ, J.A.; LEITE, D.S.; FERREIRA, F.; GENNARI, S.M. 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.
- ROBERTS, J.A. The extraparasitic life cycle of *Toxocara vitulorum* in village environment of Sri Lanka. *Veterinary Research Communications*, v.13, p.377-88, 1989.
- ROCHA, J.R.; SANTOS, W.R.M. Estudo comparativo da infecção de bezerras Jersey e búfalos por *Toxocara vitulorum*. *Revista eletrônica de Medicina Veterinária*, n.13, 2009.
- SANTOS, R.L.; TSOLIS, R.M.; BÄUMLER, A.J.; ADAMS, L.G. Hematologic and serum biochemical changes in Salmonella serovar Typhimurium-infected calves. *American Journal of Veterinary Research*, v.63, p.1145-1150, 2002.
- SILVA, M.S.T.; LOURENÇO JR., J.B.; MIRANDA, H.A.; ERCHESSEN, R.; FONSECA, R.F.S.R.; MELO, J.A.; COSTA, J.M. Programa de incentivo à criação de búfalos por pequenos produtores – PRONAF. Pará, 2003.
- SMITH, J.D. Phasmid nematode: rhabditida ascaridida and axyurida. Introduction to animal parasitology. 3a.ed. New York: Cambridge, 1994, p.397-409.
- STARKE, W.A.; MACHADO, R.Z.; HONER, M.R.; ZOCOLLER, M.C. Curso natural das helmintoses gastrintestinais em búfalos no Município de Andradina (SP). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.35, p.651-664, 1983.
- SUKHAPESNA, V. Parasites of swamp buffaloes. In: TULLOH, N.M.; HOLMES, J.H.G. (Ed.). *Buffalo Production*. Amsterdam: FAO, 1992. p.329-353.
- TARR, P.I. Escherichia coli O157:H7: Overview of Clinical and Epidemiological Issues. *Journal of Food Protection*, v.57, n.7, p.632-636, 1994.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 4a ed. 1998. p.72.
- VERMA, P.C.; KARLA, D.S. Studies on buffalo (*Bus bubalis*) calf mortality, with special reference to its etiology. *Indian Veterinary Journal*, v.52, n.8, p.605-609, 1975.
- WARREN, E.G. Studies on the morphology and taxonomy of the genera *Toxocara* Stiles, 1905, and *Neoscaris travassos*, 1927. *Zoologischer Anzeiger*, Jena, v.185, p.393-442, 1970.