

# ISOLAMENTO DE *Campylobacter* sp. DE BEZERROS COM E SEM DIARRÉIA<sup>1</sup>

JOSÉ RAFAEL MODOLO<sup>2</sup>, W. BISPING<sup>3</sup> e K. KIRPAL<sup>3</sup>

**ABSTRACT.**- Modolo J.R., Bisping W. & Kirpal K. 1986. [Isolation of *Campylobacter* sp. in calves with and without diarrhea.] Isolamento de *Campylobacter* sp. de bezerros com e sem diarreia. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1):23-25. Inst. f. Mikrobiologie u. Tierseuchen, Tierärztl. Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, D-3000 Hannover 1, W.-Germany.

The intestinal contents of 220 samples from rectum, colon and ileum of calves with and without diarrhea, were examined, obtaining *Campylobacter* sp. qualitatively and quantitatively in 33.7% of calves with diarrhea or enteritis and up to 10<sup>8</sup> *Campylobacter* sp. per gram of feces; and in 38.3% calves without these enteropathies and up to 10<sup>4</sup> *Campylobacter* sp. per gram of feces. The clinical significance of the microorganism as pathogenic agent of intestinal diseases is discussed.

**INDEX TERMS:** *Campylobacter* sp., calf, diarrhoea, enteritis.

**SINOPSE.**- Foram examinados 220 amostras de conteúdo intestinal do reto, colo e íleo de bezerros com e sem diarreia, encontrando-se *Campylobacter* sp. qualitativamente e quantitativamente, em 33,7% de bezerros com diarreia ou enterite e até 10<sup>8</sup> *Campylobacter* sp. por grama de fezes; e em 38,3% bezerros sem estas enteropatias e até 10<sup>4</sup> *Campylobacter* sp. por grama de fezes. O significado deste microrganismo como agente enteropatogênico em animais com e sem estas afecções intestinais é discutido.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** *Campylobacter* sp., bezerros, diarreia, enterite.

## INTRODUÇÃO

Aceita-se hoje, como certo, o significado da ação patogênica de microrganismos do gênero *Campylobacter* como causador de diarreias por vezes fatais em seres humanos, sendo ainda esse agente apontado como causador de uma das mais importantes zoonoses (Blaser 1980, Behrens et al. 1983), e o comprometimento intestinal que acomete os bezerros causa altos prejuízos à economia pecuária.

Aproximadamente 54% das necropsias em bezerros realizadas na Universidade de Hannover, República Federal da Alemanha, correspondem ao quadro de enterite (Taoudi et al. 1983). Pesquisas mais recentes têm apontado *Campylobacter* sp. como um dos principais agentes causadores de diarreia em bezerros (Al-Mashat & Taylor 1980a, 1980b, Taylor 1982, Al-Mashat & Taylor 1983, Scottisch Veterinary Service 1983, 1984).

No presente trabalho foi pesquisado *Campylobacter* sp. qualitativa e quantitativamente de conteúdo intestinal de bezerros

diarréicos e daqueles sem diarreia, anotando-se qual o significado da presença desse microrganismo em bovinos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 220 amostras de fezes colhidas do reto, íleo e colo de bezerros com e sem comprometimento intestinal.

As fezes do reto foram coletadas de bezerros ainda vivos e confinados em diferentes locais ao redor da cidade de Hannover e o conteúdo intestinal de secções do íleo e do colo dos mesmos animais, durante as necropsias realizadas no Instituto de Patologia Veterinária durante o período de dois anos. Em ambas as colheitas houve preocupação em saber se os animais haviam recebido alguma medicação tipo antibiótico quando de quadro diarréico; ou acometido de outra afecção. Os materiais foram examinados no máximo 12 horas após as colheitas.

Para a determinação qualitativa do agente, as fezes originadas do reto, íleo e colo foram semeadas diretamente em ágar-sangue com suplemento antibiótico de Butzler<sup>4</sup>. A seguir 1 g de material fecal foi suspenso em 9 ml de solução fisiológica, centrifugada e filtrada através de filtros com 0,65 µm de diâmetro. Do filtrado, 5 gotas foram semeadas em placas de tioglicolato.

As determinações quantitativas em 32 amostras de fezes foram feitas em diluições geométricas, utilizando-se o fator 10. De cada diluição foi semeado 0,1 ml sobre meios seletivos de Butzler. As incubações foram feitas em jaras para anaerobiose e com mistura atmosférica de 1800 ml de H<sub>2</sub> e 350 ml de CO<sub>2</sub>.

As placas de tioglicolato foram incubadas a 37°C e as seletivas de Butzler a 43°C por 72 horas. Após o período de incubação, todas as colônias suspeitas foram examinadas ao microscópio de contraste de fase e aumento 1000 X. O diagnóstico do agente foi dado através de características morfológicas de vírgula e da movimentação típica de espirilo.

## RESULTADOS

Os resultados do isolamento de *Campylobacter* sp. de 220 amostras de fezes encontram-se no Quadro 1. A análise deste Quadro mostra que 75 amostras de fezes originaram-se de bezerros sem diarreia ou enterite e 145 de bezerros com diarreia ou enterite.

Em 45 amostras de fezes do reto de bezerros, sem comprometimento entérico, *Campylobacter* sp. pôde ser isolado de 23 (51%) amostras. Nos 15 bezerros sem diarreia não foi isolado

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 8 de dezembro de 1986.

<sup>2</sup> Disciplina de Defesa Sanitária Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu, 18610 Rubião Junior, São Paulo, Brasil. Bolsista do "Deutscher Akademischer Austauschdienst"-DAAD.

<sup>3</sup> Institut f. Mikrobiologie u. Tierseuchen, Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, D-3000 Hannover 1, Rep. Fed. Alemanha.

<sup>4</sup> Firma OXOID Código SR 85

Quadro 1. Isolamento qualitativo de *Campylobacter* sp. de conteúdo intestinal de bezerras com e sem diarreia (Hannover, 1983-1984)

| Conteúdo | Bezerro sem diarreia ou enterite |                  | Bezerro com diarreia ou enterite |                  |
|----------|----------------------------------|------------------|----------------------------------|------------------|
|          | Nº de amostras                   | Quant. isolada/% | Nº de amostras                   | Quant. isolada/% |
| Reto     | 45                               | 23/51            | 57                               | 26/45,6          |
| Íleo     | 15                               | 0/0              | 44                               | 7/15,9           |
| Colo     | 15                               | 0/0              | 44                               | 8/18,1           |

Quadro 2. Isolamento quantitativo de *Campylobacter* sp. de conteúdo intestinal de bezerras com e sem diarreia (Hannover 1983-1984)

| Conteúdo | Bezerro sem diarreia ou enterite |                       | Bezerro com diarreia ou enterite |                       |
|----------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|
|          | Nº de amostras                   | Nº de <i>Campy./g</i> | Nº de amostras                   | Nº de <i>Campy./g</i> |
| Reto     | 2                                | 10 <sup>2</sup>       | 1                                | 10 <sup>2</sup>       |
|          | 8                                | 10 <sup>3</sup>       | 3                                | 10 <sup>3</sup>       |
|          | 2                                | 10 <sup>4</sup>       | 6                                | 10 <sup>4</sup>       |
|          | -                                | -                     | 2                                | 10 <sup>5</sup>       |
|          | -                                | -                     | 4                                | 10 <sup>6</sup>       |
|          | -                                | -                     | 3                                | 10 <sup>7</sup>       |
|          | -                                | -                     | 1                                | 10 <sup>8</sup>       |
| Íleo     | -                                | -                     | 1                                | 10 <sup>3</sup>       |
|          | -                                | -                     | 2                                | 10 <sup>4</sup>       |
|          | -                                | -                     | 3                                | 10 <sup>5</sup>       |
|          | -                                | -                     | 1                                | 10 <sup>7</sup>       |
| Colo     | -                                | -                     | 1                                | 10 <sup>2</sup>       |
|          | -                                | -                     | 1                                | 10 <sup>3</sup>       |
|          | -                                | -                     | 3                                | 10 <sup>4</sup>       |
|          | -                                | -                     | 2                                | 10 <sup>5</sup>       |
|          | -                                | -                     | 1                                | 10 <sup>6</sup>       |

*Campylobacter* sp. nem no íleo e nem no colo. Nas 57 amostras de fezes retal de bezerras com enterite, *Campylobacter* sp. pôde ser isolado em 26 (45,6%) amostras; em 44 amostras do intestino delgado e grosso, 7 (15,9%) vezes do íleo e 8 (18,1%) vezes do colo. Em resumo, como o conteúdo intestinal do íleo e do colo originaram-se do mesmo animal, *Campylobacter* sp. foi isolado em bezerras clinicamente sem diarreia ou enterite em 38,3% dos casos, e com diarreia ou enterite, em 33,7% dos casos.

Quanto ao aspecto quantitativo foram analisadas 12 amostras do reto de bezerras sem comprometimento entérico e 20 com diarreia ou enterite, além de 7 amostras do íleo e 8 do colo. Os resultados obtidos estão representados no Quadro 2.

Do total de amostras de fezes com resultado positivo para *Campylobacter* sp., 13 amostras que se originaram de bezerras sem diarreia, não puderam ser quantitativamente pesquisadas, pois com o congelamento e o descongelamento das amostras, *Campylobacter* sp. não pôde ser mais isolado.

A concentração de *Campylobacter* sp. nas amostras restantes dos bezerras sem enterite situou-se entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>4</sup>, *Campylobacter* sp./g de fezes. Para os doentes entéricos do reto, íleo e colo, *Campylobacter* sp. situou-se entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>8</sup> *Campylobacter* sp./g de fezes.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

No total, foram examinadas 220 amostras de fezes de conteúdo intestinal e correspondendo ao reto, íleo e colo, sendo 75 amostras de bezerras sem e 145 amostras de bezerras com diarreia ou enterite. Respectivamente *Campylobacter* sp. foi isolado nessas amostras em 30,7% contra 28,3%.

Originando-se as secções intestinal do íleo e colo do mesmo animal concluímos que, no período definido deste trabalho, a porcentagem de isolamento qualitativo de *Campylobacter* sp. de bezerras diarreicos foi inferior ao isolamento dos não diarreicos, de 33,7% e 38,3%, respectivamente (Quadro 1), enquanto que a quantidade de *Campylobacter* sp. nas fezes de bezerras com essas afecções é superior a dos animais sem essas enteropatias (10<sup>2</sup> à 10<sup>8</sup> C./g de fezes de bezerras com e 10<sup>2</sup> à 10<sup>4</sup> C./g de fezes de bezerras sem diarreia - Quadro 2). Dos animais do experimento, 41 receberam antibiótico, sendo 36 (35,6%) com e 5 (8,3%) sem diarreia ou enterite. Na análise dos resultados alguns fatores devem ser considerados. O uso desses medicamentos deve, provavelmente, ter influenciado o isolamento do agente, podendo o fato explicar a baixa porcentagem de isolamento nos animais diarreicos contra os não diarreicos. Outro fator a considerar foi o tempo entre a morte do animal, a colheita e o processamento laboratorial. As fezes do reto foram processadas no máximo 5 horas após a colheita e foi possível isolar o agente de amostras com pequeno número de *Campylobacter* sp./g de fezes.

O processamento das amostras dos animais necropsiados, ao contrário, demorou até 12 horas após a morte. Provavelmente *Campylobacter* sp. só pôde ser isolado de casos com um grande número de *Campylobacter* sp. nas fezes. Isto pode explicar porque a porcentagem do isolamento de *Campylobacter* sp. em amostras frescas provenientes de animais com e sem diarreia foi maior que nas análises feitas em animais necropsiados. O mesmo fenômeno deve ter ocorrido com amostras do íleo e colo de animais com essas afecções intestinais.

Isolaram-se *Campylobacter* sp. de conteúdo intestinal de bezerras clinicamente sadios (Florente 1959, Gill & Harris 1982, Weber et al. 1984). Em algumas de nossas amostras, *Campylobacter* sp. pôde ser isolado do íleo e colo de bezerras com enterite, mas não de bezerras sem enterite ou diarreia. O não isolamento de *Campylobacter* sp. do íleo e colo de bezerras sem diarreia ou enterite não contradiz as afirmações dos autores acima, pois acreditamos que o tratamento com antibiótico, o tempo entre a morte, a colheita e o processamento laboratorial devem ter influenciado seu isolamento. Provavelmente ainda por esses motivos o achado do agente no íleo e colo de animais com enterite deve ser ainda sensivelmente superior.

Taylor (1982), infectou bezerras com *C. jejuni* e esses animais após 48 horas apresentaram inflamação da mucosa entérica e aparecimento dos primeiros sintomas clínicos. Também em infecção experimental de bezerras com *C. fecalis*, esses apresentaram aumento dos linfonodos mesentéricos, abomasite, bem como espessamento e hiperemia da mucosa do íleo. Os achados anátomo-patológicos de bezerras infectados com *C. fetus* ssp. *intestinalis* no jejuno, íleo, ceco e colo foram semelhantes aos causados por *C. fetus* ssp. *jejuni* (Al-Mashat & Taylor 1983).

McCordell et al. (1983), com auxílio da imunoperoxidase demonstraram a presença de *C. jejuni* no interior das células epiteliais da lâmina própria do trato intestinal. Em 1983 e 1984 o Scottish Veterinary Investigation Service revelou ser *C. jejuni* o único agente isolado de bezerras com diarreia, e em alguns casos associado ao coronavírus.

Em nossos experimentos, o isolamento quantitativo de *Campylobacter* sp. do conteúdo intestinal de bezerros com enterite situou-se entre  $10^2$  e  $10^8$  *Campy.*/g de fezes, enquanto que nos bezerros sem enterite o isolamento quantitativo foi bem inferior. Nossos resultados permitem afirmar que o processamento de *Campylobacter* sp. em fezes frescas deve ser o mais rápido possível, não ultrapassando 6 horas. Os animais sem diarreia ou enterite, de onde foi isolado o agente, podem funcionar como portadores inaparentes e como fonte de contaminação para outros animais e para o homem. *Campylobacter* sp. pode também ser visto como um agente patogênico oportunista e causador de diarreia ou enterite.

## REFERÊNCIAS

- Al-Mashat R.R. & Taylor D.J. 1980a. *Campylobacter* ssp. in enteric lesions in cattle. Vet. Rec. 107:31-34.
- Al-Mashat R.R. & Taylor D.J. 1980b. Production of diarrhoea and dysentery in experimental calves by feeding pure cultures of *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni*. Vet. Rec. 107:459-464.
- Al-Mashat R.R. & Taylor D.J. 1983. Production of enteritis in calves by oral inoculation of pure cultures of *Campylobacter fetus* subspecies *intestinalis*. Vet. Rec. 112:54-58.
- Behrens R., Kist M. & Helwig H. 1983. *Campylobacter*infektion bei Kindern. Immun. Infekt. 11:55-60.
- Blaser M., Laforce F.M., Wilson N.A. & Wang, W.L.L. 1980. Reservoirs for human *Campylobacteriosis*. J. Infect. Dis. 141:665-669.
- Florent A. 1959. La Vibriose due à *V. fetus venerealis* et la Vibriose d'origine intestinale due à *V. fetus intestinalis*. Meded. Veeartsenijschr. Rijksuniv. Gent 3:1.
- Gill C.O. & Harris L.M. 1982. Contamination of red-meat carcasses by *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. Appl. Environ. Microbiol. 43:977-980.
- McCordell B.A., Madden J.M., Bier S.W., Leet E.C. & Dallas H.L. 1983. Evidence for multiple pathogenic mechanisms in infections with *Campylobacter* spp. In: A.D. Pearson, M.B. Skirrow, B. Bowe, J.R. Davies & D.M. Jones (Ed.) *Campylobacter* II Phls, London, p. 128.
- Scottish Veterinary Investigation Service 1983. Enteric and respiratory diseases in cattle widespread. Vet. Rec. 25:597.
- Scottish Veterinary Investigation Service 1984. Respiratory disease common. Vet. Rec. 28:79.
- Taoudi A., Meyer C. & Amtsberg G. 1983. Untersuchungen zum derzeitigen Vorkommen von bakteriellen Infektionserregern im Sektionsmaterial von Kälbern. Prakt. Tierarzt 64:221-226.
- Taylor D.J. 1982. Natural and experimental enteric infections with catalase-positive *Campylobacter* in cattle and pigs, p. 163-167. In: D.G. Newell (Ed.) *Campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry*. MTP Press, Lancaster.
- Weber A., Bergmann I. & Bauer K. 1984. Nachweis von *Campylobacter jejuni* in Kotproben von Kälbern mit und ohne Enteritiden. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 97:10-13.