

Artículo original

Pesquisa de agentes causadores da campilobacteriose e trichomonose genital bovina em reprodutores puros de origem do estado de mato grosso do sul

Danila Fernanda Rodrigues Frias^{a,*}, Vanessa Felipe de Souza^b, Dora Inês Kozusny-Andreani^a

^aUniversidade Brasil, Campus VII, Fernandópolis, São Paulo, Brasil. ^bEmbrapa Gado de Corte, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

Recibido 28 de agosto de 2017; aceptado 16 de diciembre de 2017

Resumo: Este trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Campylobacter fetus* e *Tritrichomonas foetus* em touros usados em monta natural de rebanhos de seleção. Foram coletadas 70 amostras em triplicata, com intervalo de 15 dias, de esmegma de toros reprodutores que estavam em repouso sexual. Para o cultivo de *C. fetus* o material foi transportado em meio Lander e incubado por 72 horas a 37 °C; após foi inoculado em ágar BHI enriquecido e com suplemento seletivo para *Campylobacter* e incubado em microaerofilia, a 37 °C por 72 horas. Para o cultivo de *T. foetus*, a amostra foi colocada no meio Lactopep e incubada a 37 °C, por 10 dias. Nenhuma amostra apresentou crescimento de *T. foetus* e/ou *C. fetus*. Assim, concluiu-se que em rebanhos genéticos elevados as estratégias indicadas para o controle dos patógenos pesquisados acontecem de forma eficaz o que é muito importante para a manutenção da eficiência reprodutiva do rebanho.

Palavras chave: *Campylobacter fetus*, *Tritrichomonas foetus*, bovinos, doenças reprodutivas.

Investigación de agentes causantes de campilobacteriosis y trichomonosis genital bovina en reproductores puros de origen del sur del estado de Mato Grosso

Resumen: Este trabajo tuvo como objetivo investigar la presencia de *Campylobacter fetus* y *Tritrichomonas foetus* en toros usados en monta natural de rebaños de selección. Se recogieron 70 muestras de esmegma por triplicado, con intervalos de 15 días, de toros reproductores que estaban en reposo sexual. Para el cultivo de *C. fetus*, el material fue transportado en medio Lander, incubado por 72 horas a 37 °C; después fue inoculado en agar BHI enriquecido más un suplemento selectivo para *Campylobacter* e incubado en microaerofilia, a 37 °C por 72 horas. Para el cultivo de *T. foetus*, las muestras fueron colocadas en medio Lactopep e incubadas a 37 °C, durante 10 días. Ninguna muestra presentó crecimiento de *T. foetus* y/o *C. fetus*. Se concluyó que en rebaños de alta genética las estrategias indicadas para el control de los patógenos investigados funcionaron de forma eficaz, lo que es muy importante para el mantenimiento de la eficiencia reproductiva del rebaño.

Palabras clave: *Campylobacter fetus*, *Tritrichomonas foetus*, bovinos, enfermedades reproductivas.

Investigation of campylobacteriosis causative agents and bovine genital trichomoniasis in pure breeders of the southern Mato Grosso state

Abstract: The objective of this work was to investigate the presence of *Campylobacter fetus* and *Tritrichomonas fetus* in bulls used in natural selection of herds. A total of 70 smegma samples were collected in triplicate, with intervals of 15 days, from breeding bulls that were in sexual rest. For culture of *C. fetus* the material was transported in Lander medium and incubated for 72 h at 37°C; after inoculation with enriched BHI agar and with a selective supplement for *Campylobacter* were incubated in microaerophilic cells at 37°C for 72 hours. For *T. fetus* culture, samples were placed in Lactopep medium and incubated at 37 °C for 10 days. None of the samples produced growth of *T. fetus* and/or *C. fetus*. Thus, it was concluded that in high genetic herds the strategies indicated for the control of the pathogens researched happen to be effective, which is very important for the maintenance of the reproductive efficiency of the herd.

Keywords: *Campylobacter fetus*, *Tritrichomonas foetus*, bovine, reproductive diseases.

* Correspondencia:

E-mail: danila.frias@universidadebrasil.edu.br

Introdução

A campilobacteriose genital bovina e a trichomonose genital bovina são doenças infecto-contagiosas, de transmissão sexual, que causam inúmeros prejuízos ao criador, em decorrência dos graves problemas reprodutivos que provocam, dentre eles, abortos, morte embrionária, repetição de cio, etc [1].

Nas fêmeas, estas doenças causam alterações reprodutivas, já nos machos, a infecção é assintomática, podendo o touro permanecer infectado e ser fonte de infecção durante toda sua vida reprodutiva. Por este motivo, os touros são importantes agentes de disseminação dos patógenos em questão [2,3].

Mesmo os touros constituindo uma pequena porcentagem do rebanho, eles causam grande impacto na economia da produção de carne, pois eles contribuem com 50% da genética de um bezerro, e são responsáveis pela cobertura de cerca de 25 a 30 fêmeas, ou seja, se o touro por algum motivo, seja sanitário ou nutricional, não consiga cumprir com suas funções, a produção de bezerras diminui e a rentabilidade econômica da exploração fica em risco. Por isso, é extremamente importante que antes da estação de monta estes reprodutores sejam avaliados, para que os mesmos estejam em perfeitas condições de contribuir com todo seu potencial reprodutivo [3,4].

A identificação de agentes infecciosos responsáveis por falhas reprodutivas constitui ainda hoje um enorme desafio para os sistemas de produção, pois as quedas nos índices reprodutivos são identificadas tardiamente e as alterações reprodutivas são pouco perceptíveis. Por isso, é importante salientar a importância do monitoramento sanitário do rebanho, desde a entrada de animais, até os que contemplam o rebanho [4]. Por este motivo, o presente trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Campylobacter fetus* e *Trichomonas foetus* em touros utilizados na monta natural de rebanhos de alta genética, que produzem animais para serem comercializados como matrizes e reprodutores, do Estado de Mato Grosso do Sul.

Materiais e métodos

O trabalho foi realizado em parceria com laboratório de microbiologia da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis, São Paulo, e do laboratório de virologia da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Para realização dos diagnósticos, foram coletadas amostras de esmegma de reprodutores puros de origem da raça Nelore e Senepol (Aprovado pela CEUA Embrapa Gado de Corte com número de protocolo 002/2013, de 08/08/2013).

1. Seleção de animais, coleta e transporte de amostras: Foram selecionadas 10 fazendas distribuídas no Estado do Mato Grosso do Sul. Destas fazendas foram coletados todos os reprodutores usados na última estação de monta, perfazendo um total de 50 touros na raça Nelore e 20 touros

da raça Senepol. Os reprodutores coletados estavam em repouso sexual a cerca de 20 dias e foram realizadas três coletas intercaladas a cada 15 dias, totalizando 210 amostras, com o objetivo de obter um resultado mais fidedigno.

Para a coleta, primeiramente foi realizada tricotomia do óstio prepucial, seguida por lavagem externa do prepúcio e secagem do mesmo com papel toalha. Em seguida, um swab estéril acoplado a uma pipeta de inseminação foi introduzido até o fundo de saco da cavidade prepucial onde foi friccionado nas mucosas prepucial e peniana. Este procedimento foi realizado em duplicata, uma amostra para cultivo de *C. fetus* e a outra para *T. foetus*.

Depois de retirado o swab do prepúcio do touro, para cultivo de *C. fetus*, o mesmo contendo muco, foi adicionado em meio de Lander para transporte. Este meio foi desenvolvido por Lander [5] e é composto por caldo Müeller-Hinton mais concentrações finais de carvão bacteriológico (5 g); sangue hemolisado de equino (70 mL); agentes antimicrobianos: vancomicina (40 µg/mL); trimetoprima (20 µg/mL); 5-fluoruracila (500 µg/mL); ciclohexamida (100 µg/mL) e polimixina B (10 UI/mL).

Para o cultivo de *T. foetus*, a amostra coletada foi colocada em tubo tipo Falcon contendo 10 mL de meio Lactopep, mantido em temperatura ambiente. O meio Lactopep é composto por 8 g de peptona bacteriológica, 40 g de leite em pó, e 1 g de pentabiótico veterinário (Penicilinas benzatínica, potássica y procaínica 400.000 U.I. y estreptomicina y dihidroestreptomicina 166,6 mg) diluído em 10 mL de solução salina ao 0,85%, de acordo com descrito por Lopes *et al.* [6].

2. Cultivo e identificação dos agentes:

2.a. C. fetus: O meio de Lander foi incubado por 72 horas a 37 °C e filtrado. Alíquotas de 0,1 mL do material filtrado e não filtrado foram inoculadas em ágar BHI (Oxoid®) acrescido de 10% de sangue desfibrinado de equino com suplemento seletivo para *Campylobacter*, composto por anfotericina B e cefoperazone (Merck®) e incubados em microaerofilia, a 37 °C por 72 horas. Em seguida, foi realizado esfregaço, coloração de Gram e testes bioquímicos nas colônias lisas, côncavas, brilhantes e com bordas regulares, consideradas suspeitas. As provas bioquímicas utilizadas foram: testes da catalase e da oxidase, fermentação da glicose, redução do nitrato, produção de H₂S, hidrólise do piruvato e teste de termotolerância a 25 °C, 37 °C e 42 °C.

2.b. T. foetus: O material coletado e adicionado ao meio Lactopep foi incubado a 37 °C por 10 dias, com observação diária para verificação da presença de protozoários móveis, de morfologia piriforme e com presença de três flagelos anteriores e um flagelo posterior, e em casos suspeitos, realização da coloração de Giemsa.

Resultados e discussão

Foram analisadas 210 amostras de esmegma de reprodutores provenientes de fazendas produtoras de animais de alta genética e destas nenhuma apresentou

crescimento de *T. foetus* e/ou *C. fetus*.

O resultado negativo para *T. foetus* é semelhante ao encontrado por Paz Junior *et al.* [7], quando investigaram a ocorrência deste patógeno em rebanhos do Estado de Pernambuco e de Mello [8], em pesquisa realizada em rebanhos de Minas Gerais. No entanto, outros autores demonstraram prevalência deste parasita em rebanhos bovinos, como Botelho [9], ao avaliar amostras de 200 touros encaminhados ao abate no Estado de Minas Gerais, detectou 8% de animais positivos.

Com relação ao *C. fetus*, sua ausência difere dos resultados encontrados por alguns autores, como por exemplo, Ziech *et al.* [10], que examinaram amostras de esmegma de touros utilizados em monta natural, e em 9% foi encontrada a referida bactéria. Botelho [9], também detectou a presença do patógeno em 17,5 % das amostras analisadas.

Como a principal estratégia de controle da campilobacteriose e a trichomonose genital bovina é a implantação na propriedade de um programa de inseminação artificial, devido ao bloqueio da via mais importante da transmissão das doenças, o contato sexual [11], acredita-se que esse seja o principal indicio da ausência destes patógenos nos rebanhos que foram testados, pois são rebanhos cujos animais são de alto valor genético e a prática de inseminação artificial é realizada em todo rebanho, ficando o touro de repasse (monta natural) apenas com algumas vacas que permaneceram vazias após, geralmente, duas tentativas de inseminações.

O descarte dos touros portadores de alguma alteração reprodutiva, assim como a implantação de estação de monta curta (cerca de 90 dias), descarte das fêmeas vazias ao final da estação e o repouso sexual por 3 a 4 ciclos para recuperação das fêmeas vazias que permanecerem no rebanho, também são métodos preconizados para o controle da campilobacteriose e da trichomonose [1]. Para rebanhos produtores e disseminadores de genética, os métodos citados acima são de eleição para manutenção de um índice produtivo elevado.

A utilização de animais jovens para a formação de um rebanho livre dessas doenças sexualmente transmissíveis a partir de novilhas virgens e de touros não infectados também seria ideal [12]. Propriedades de animais de elite buscam trabalhar com reprodutores jovens e a reposição de suas matrizes geralmente é realizada com suas próprias novilhas, animais estes sabidamente livres dos patógenos pesquisados.

Alguns trabalhos salientam que touros mais velhos são mais susceptíveis à infecção natural ou experimental pelos agentes pesquisados, principalmente pelo fato de que com o aumento da idade exista um aumento da profundidade das criptas prepuciais, otimizando as condições à sobrevivência do agente [1]. Além disso, touros mais velhos exercem uma dominância social no rebanho [3], cobrindo com mais frequência que os touros mais jovens. Como já citado, propriedades de rebanhos puros fazem um descarte e seleção mais criterioso dos touros de repasse, por isso, os

touros são descartados mais jovens.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos, notou-se que em rebanhos bovinos produtores de animais com alta genética, as estratégias indicadas para o controle dos patógenos pesquisados acontecem de uma maneira natural, por isso, é normal não encontrá-los neste tipo de rebanho.

Em rebanhos que adquirem animais para reprodução (vacas e touros), além da manutenção destas medidas estratégicas, também seria interessante a utilização da vacinação sistêmica do rebanho em idade reprodutiva, pois a mesma vem demonstrando alta eficácia na prevenção de repetições de cio e abortos causados por estes agentes tornando-se uma excelente aliada.

Agradecimentos

Fundect/MS, CNPq, Embrapa Gado de Corte e Universidade Brasil/Campus de Fernandópolis-SP.

Referências

1. Pellegrin AO, Lage AP, Sereno JB, Ravaglia E, Costa MS, Leite RC. Bovine genital campylobacteriosis in Pantanal, Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 2002; 55:160-73.
2. Silva RO. O touro de monta natural. *Notícias Limousine.* 2012; 20:74-5. Disponível em: http://www.limousineportugal.com/n20_jul_2012.pdf. Acessado em: 15 nov 2017.
3. Gomes MJP. Tricomonose/Tricomoniase bovina. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Campylobacter%204-2013-1.pdf>. Acessado em: 5 fev 2017.
4. Silva JR, Costa LL. Avaliação da função reprodutiva do touro para sistemas de produção em extensivo: componentes da avaliação, protocolos e guia de interpretação. *Rev Port Buiatria.* 2010; 14:39-54.
5. Lander KP. The development of a transport and enriched medium for *Campylobacter fetus*. *Br Vet J.* 1990; 146:327-33.
6. Lopes LMS, Guida HG, Serra-Freire NM, Jesus VLT, Andrade VLB, Pereira EBB. Um novo meio de transporte e cultivo para *Trichomonas foetus* (Riedmuller, 1928), teste comparativo de eficiência na tricomonose em touros. *Rev Bras Ciênc Vet.* 1994; 1:13-5.
7. Paz Junior CJ, Almeida HJO, Junior HAF, D'Alencar AS, Galindo MKS, Jesus VLT, *et al.* Frequência de infecção por *Trichomonas foetus* em bovinos leiteiros do município de Sanharó – PE. *Med Vet.* 2010; 4:6-11.
8. Mello MR. Dados sobre a incidência da tricomonose bovina em alguns Estados do Brasil. *Boletim de*

- Inseminação Artificial. 1954; 6:16-23.
9. Botelho MPA. Detecção de *Tritrichomonas foetus* e *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis* em touros por meio da PCR e PCR multiplex. [dissertação de mestrado]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2014.
 10. Ziech RE, Machado G, Kirinus JK, Libardoni F, Kessler JD, Vargas LPAC. *Campylobacter fetus* em bovinos no estado do Rio Grande do Sul. Ciência Rural. 2014; 44:141-6.
 11. Bondurant RH. Venereal diseases of cattle: natural history, diagnosis, and the role of vaccines in their control. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2005; 21:383-408.
 12. Clark BL. Review of bovine vibriosis. Aust Vet J. 1971; 47:103-7.