



Prevalência da campilobacteriose e da tricomonose genitais bovinas no Distrito Federal e em seu entorno

Prevalence of bovine genital Campylobacteriosis and Trichomoniasis in the Federal District and its surroundings

D.R. Leal, G.O. Fernandes, F.F. Gouveia, K.L. Miranda, J.P. Neves¹

Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, Brasil.

¹Correspondência: jpneves@unb.br

Resumo

Objetivou-se estudar a prevalência da campilobacteriose genital bovina (CGB) e da tricomonose genital bovina (TGB) no Distrito Federal e em seu entorno. A estimativa da prevalência de cada doença foi realizada com base no exame de útero e vagina ou prepúcio de 385 animais abatidos em frigoríficos no DF e em seu entorno. O diagnóstico de *C. fetus* foi feito por imunofluorescência direta (IFD). Para diagnóstico de *T. foetus*, swabs de útero e vagina ou prepúcio foram lavados em meio de Diamond, mantidos em temperatura ambiente e protegidos da luz até a incubação a 37°C por até oito dias e examinados diariamente ao microscópio utilizando-se objetiva de 40X. Dos 398 animais testados (258 fêmeas e 140 machos), 44 foram positivos ao teste de IFD, o que corresponde a uma prevalência de 11,1% de animais positivos para CGB, com intervalo de confiança (95%) de 7,97 a 14,14%. Não foi isolado *T. foetus* de nenhuma das amostras. Os resultados confirmam a presença da infecção por *C. fetus* em rebanhos bovinos do Distrito Federal e de seu entorno.

Palavras-chave: *Campylobacter fetus*, cultivo, imunofluorescência, prevalência, *Tritrichomonas foetus*.

Abstract

The aim of this study was to investigate the prevalence of bovine genital campylobacteriosis (BGC) and bovine genital trichomoniasis (TGB) in Federal District and surroundings. The estimated prevalence of each disease was based on examination of the uterus and vagina or prepuce of 385 animals at slaughterhouses in Federal District and its surroundings. The diagnosis of *C. fetus* was done by direct immunofluorescence (DIF). For diagnosis of *T. fetus* swabs from vagina and uterus/prepuce were washed in Diamond's medium, kept at room temperature and protected from light until incubation at 37°C for 8 days and examined daily by microscopy using a 40x objective. Of the 398 animals tested (258 females and 140 males), 44 were positive by DIF test, corresponding to a prevalence of 11.1% of animals positive for CGB, (95% probability interval: 7.97 - 14.14%). *T. fetus* was not isolated from any of the samples. The results confirm the presence of infection by *C. fetus* in cattle herds in the Federal District and surrounding areas.

Keywords: *Campylobacter fetus*, *Tritrichomonas fetus*, culture, immunofluorescence, prevalence.

Introdução

Segundo a Pesquisa Pecuária Municipal, disponibilizada pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010), a região Centro-Oeste concentra a maior parte do efetivo bovino nacional, com cerca de 35% de todo o rebanho. Segundo Neves et al. (1999), a taxa de parição nessa região é de 57,9%, enquanto a média nacional de fertilidade (expressa em % matrizes prenhes/matrizes totais/ano) não supera 50% (Ferraz, 1996; Jesus e Gabriel, 1998). Embora tenha aumentado a produção, com grande incorporação de novas tecnologias em alguns setores do agronegócio, a pecuária nacional, em termos de produtividade, não teve aumento significativo (Neves et al., 1999).

Dentre os importantes fatores associados com a rentabilidade da pecuária bovina, destaca-se a reprodução, que afeta diretamente a produtividade, sendo dependente, entre outros, de fatores nutricionais, genéticos, sanitários e, sobretudo, de um manejo adequado. Em um sistema de produção, a eficiência reprodutiva pode ser medida pelas variáveis: número de serviços por concepção, duração do período de serviço, intervalo entre partos, taxa de não retorno ao estro e, principalmente, taxa de parição, ou seja, a produção de bezerros.

As doenças que afetam a reprodução de bovinos contribuem em grande parte para que os índices citados venham se mantendo baixos. Entretanto, enfermidades que apresentam sinais clínicos mais evidentes têm despertado maior interesse por parte de técnicos e criadores, levando à implantação de programas de controle. Outras doenças, cuja principal manifestação é a repetição de estro, mesmo acarretando prejuízos pelo aumento do intervalo de partos, têm passado, às vezes, despercebidas. A campilobacteriose genital bovina (CGB) e a



tricomonose bovina (TGB), de caráter eminentemente venéreo, são duas doenças que se encaixam nessa categoria (Ball et al., 1987).

A primeira é causada pela bactéria *Campylobacter fetus*, subespécie *venerealis*, e a segunda pelo protozoário piriforme *Tritrichomonas foetus*. O habitat natural desses agentes é o trato reprodutivo dos bovinos. As principais manifestações clínicas são: a repetição de estro a intervalos irregulares e o aborto, com maior frequência até os cinco meses de gestação (Skirrow e Bon Durant, 1988). A CGB e a TGB são responsáveis por perdas econômicas devido ao descarte e à necessidade de reposição de animais subfêrteis (fêmeas repetidoras de estro e touros contaminados), ao custo de sêmen, à queda na produção de bezerros e ao aumento do intervalo de partos (Stoessel, 1982; Dekeyser, 1986).

Em virtude das práticas de manejo reprodutivo utilizadas no Brasil, é possível que a CGB e a TGB estejam presentes em todos os estados da Federação (Alves et al., 2011). Nas últimas décadas, a pesquisa em CGB e TGB foi pouco representativa, principalmente no Brasil. Acreditava-se que essas doenças já estivessem controladas, entretanto, mesmo com todas as tecnologias disponíveis para seu controle, os levantamentos epidemiológicos ainda indicam a presença dessas enfermidades em rebanhos bovinos brasileiros. Objetivou-se estudar a prevalência da CGB e da TGB no Distrito Federal e em seu entorno.

Material e Métodos

Para estimar a prevalência de cada doença, foi realizado um inquérito com base no teste dos *swabs* de útero e vagina ou prepúcio de 385 animais amostrados em três frigoríficos no DF ou em seu entorno, no período de junho a dezembro de 2009. O número de animais amostrados foi estipulado com base em uma amostra aleatória simples pelo módulo Statcalc do programa *Epi Info 6*. Considerando-se a prevalência esperada de 50%, com nível de confiança de 95% e erro esperado de 5%, e o inquérito epidemiológico, foram calculados a prevalência e o intervalo de confiança (Dohoo et al., 2003). As amostras foram coletadas em três abatedouros frigoríficos, um localizado no Distrito Federal, na cidade de Planaltina, e os outros dois em cidades da região do entorno, no estado de Goiás, em Novo Gama e Luziânia.

Para coleta de material, foram utilizados útero e vagina das fêmeas ou prepúcio de machos abatidos em frigoríficos. Os úteros e vaginas ou prepúcios foram abertos com material cirúrgico estéril e escarificados com lâmina de bisturi. Após a escarificação, foram passados dois *swabs* estéreis por órgão amostrado. Um *swab* era lavado em solução salina fosfatada (PBS, pH 7,4) e acondicionado em gelo, para diagnóstico de campilobacteriose genital bovina, e o outro era lavado em meio de Diamond e mantido protegido de luz, para diagnóstico de tricomonose bovina.

A imunofluorescência direta (IFD) para detecção de *C. fetus* foi realizada conforme as recomendações de Mellick et al. (1963) e Winter et al. (1967). Os lavados obtidos dos *swabs* em PBS foram submetidos a duas centrifugações: a primeira a 600 x g, por 10 min, obtendo-se um sobrenadante que foi então centrifugado a 13000 x g por 30 min. O sedimento da segunda centrifugação foi ressuscitado em 500 µL de PBS (pH 7,4), homogeneizado, e 20 µL da suspensão foram, então, colocados, em duplicata, nas demarcações da lâmina para imunofluorescência. As lâminas foram secas à temperatura ambiente e fixadas em acetona a -20°C por 30 min. Após a fixação, as lâminas foram cobertas com 20 µL de uma diluição de 1/16 de soro anti-*C. fetus* subsp. *venerealis* preparado em coelho com a amostra *C. fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354 e conjugado com fluoresceína (Sigma, USA) segundo Ruckerbauer et al. (1974). Após incubação por 30 min. a 37°C em câmara úmida, as lâminas foram submetidas a três lavagens com PBS (pH 7,4) por 10 min., para a retirada do excesso de conjugado. Para a montagem das lâminas, utilizou-se glicerina tamponada (pH 9,2), e o material foi coberto com lamínula. Como controle positivo, foi utilizado o *C. fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354. As lâminas foram examinadas em microscópio de epifluorescência com objetivas de 40X e 100X. Foram considerados positivos os lavados prepuciais que apresentaram bactérias fluorescentes com morfologia típica de *C. fetus*. Os *swabs* destinados ao diagnóstico de tricomonose foram lavados em meio de Diamond (Stoessel, 1982), protegidos da luz e incubados a 37°C, por cerca de 72 h. A confirmação de um cultivo positivo baseou-se na visualização do parasito, por meio de exame direto do material, entre lâmina e lamínula, com um aumento de 400X em microscopia de campo escuro ou contraste de fase. A visualização de pelo menos um parasito vivo com os movimentos abruptos característicos conferiria positividade ao material.

Resultados e Discussão

Das amostras coletadas não foi possível isolar *T. foetus* de nenhuma delas, embora o tempo de transporte das peças coletadas até o processamento no laboratório para coleta das amostras por *swab* e a ausência de repouso sexual prévio possam ter influenciado no diagnóstico. Nascimento et al. (2005) e Rocha et al. (2009) encontraram resultados semelhantes para TGB ao pesquisarem animais em propriedades com problemas reprodutivos. Os resultados deste trabalho não confirmam a inexistência da doença nos rebanhos do Distrito Federal e em seu entorno, uma vez que se tratou de um estudo de prevalência, com resultado de um único teste. Para o diagnóstico da TCG e da CGB recomenda-se a realização de três testes consecutivos, com intervalos de



sete a 15 dias de repouso sexual para aumentar a sensibilidade do diagnóstico (Noakes et al., 2001; Pellegrin et al., 2003; Office International des Epizooties - OIE, 2011).

Os resultados obtidos no diagnóstico da CGB demonstraram prevalência relativamente alta dessa infecção na região do Distrito Federal e em seu entorno. Dos 398 animais testados, 44 foram positivos ao teste, o que corresponde a uma prevalência de 11,1% de animais positivos para CGB, com intervalo de confiança (95%) de 7,97% a 14,14%. Do material amostrado, 258 pertenciam a fêmeas e 140 a machos. Entre os reagentes, 17 eram machos e 27 eram fêmeas (Tab. 1).

Esse resultado é semelhante ao relatado em outros trabalhos realizados no Brasil (Castro et al., 1967, 1971; Ramos e Guida, 1978), porém abaixo do encontrado por diversos outros (Mies Filho, 1963; Costa, 1976; Leite, 1977; Genovez et al., 1986; Lage et al., 1997; Jesus et al., 1999; Pellegrin et al., 2003; Stynen et al., 2003). Não se pode concluir que a prevalência encontrada neste trabalho seja menor ou maior que as estimadas nos estudos citados, pois os delineamentos experimentais são diferentes. Em muitos desses estudos, os autores não utilizaram um delineamento experimental com objetivo de estimar prevalência, fazendo apenas levantamentos especificamente em propriedades-problema e nos animais com problemas reprodutivos, além de empregarem diferentes técnicas de diagnóstico que variam em sua sensibilidade e especificidade. Por essas razões, as variações no índice de CGB não podem ser diretamente comparadas.

Conclusões

Os resultados deste estudo evidenciaram a presença da infecção por *Campylobacter fetus* em rebanhos bovinos da região do Distrito Federal e em seu entorno. Assim, recomenda-se a inclusão da pesquisa de CGB e da TGB na rotina de diagnóstico laboratorial e na lista de prováveis doenças que causem baixos índices reprodutivos em rebanhos da região estudada.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Rômulo Cerqueira Leite, da Escola de Veterinária da UFMG, pelo fornecimento do conjugado anti-*Campylobacter fetus*. Este trabalho foi financiado com recursos do Edital CnPQ/MAPA Nº 64/2008.

Referências

- Alves TM, Stynen APR, Miranda KL, Lage AP. Campilobacteriose genital bovina e tricomonose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. *Pesq Vet Bras*, v.31, p.336-344, 2011.
- Ball L, Dargatz DA, Cheney JM, Mortimer RG. Control of venereal disease in infected herds. *Vet Clin Food Anim*, v.3, p.561-574, 1987.
- Castro AFP, Giorgi W, Aoki D. Pesquisas de aglutininas anti-*Vibrio fetus* em mucos vaginais de rebanhos bovinos dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná. *Biológico*, v.37, p.115-118, 1971.
- Castro AFP, Giorgi W, Rosa CAS. Vibriose bovina no Estado de São Paulo. Isolamento de novas amostras de *Vibrio fetus* e pesquisa de aglutininas anti-*Vibrio fetus* no muco vaginal. *Arq Inst Biol*, v.34, p.30-43, 1967.
- Costa EA. Vibriose Bovina no Estado da Bahia, pesquisa de aglutininas anti-*Campylobacter fetus* no muco vaginal. *Bol IBB*, v.15, p.14-18, 1976.
- Dekeyser PJ. Bovine genital campilobacteriosis. In: Morrow DA (Ed.). *Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1986. p.263-266.
- Dohoo I, Martin W, Stryen H. *Veterinary Epidemiologic Research*. Charlotte Town: AVC Inc., 2003. 474p.
- Ferraz JBS. Impacto econômico na pecuária de leite e corte do Brasil, com o aumento da utilização da inseminação artificial. *Rev Bras Reprod Anim*, v.20, p.95-98, 1996.
- Genovez ME, Scarcelli E, Picone ABB. Avaliação de dois métodos de coleta de muco prepucial no diagnóstico da Campilobacteriose Genital no touro. *Biológico*, v.52, p.7-11, 1986.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção da pecuária municipal*. Rio de Janeiro: IBGE, 2010. v.38, 65p. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 09 nov. 2011.
- Jesus VLT, Três JE, Jacob JCF, Latorre LBLM, Santos Jr JCB. Campilobacteriose genital bovina: ocorrência nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. *Rev Bras Ciec Vet*, v.6, p.133-136, 1999.
- Jesus VLT, Gabriel AMA. Fatores que interferem na inseminação artificial: buscando soluções. *Rev Bras de Reprod Anim*, v.22, p.66-70, 1998.
- Lage AP, Pellegrin AO, Costa GM, Martins NE, Silva N, Gomes LI, Renato APR, Guimarães PHS, Leite RC. Campilobacteriose genital bovina: 21 anos de diagnóstico na Escola de Veterinária da UFMG. *Rev Bras Reprod Anim*, v.21, p.164-166, 1997.



- Leite RC.** Avaliação de alguns métodos de diagnóstico e análise custo/benefício do controle da campilobacteriose bovina. 1977. 38f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 1977.
- Mellick PW, Winter AJ, McEntee K.** Diagnosis of vibriosis in the bull by the use of the fluorescent antibody technic. *Cornell Vet*, v.55, p.280-294, 1963.
- Mies Filho A.** Vibriose Bovina: evolução de um foco no Rio Grande do Sul. *Rev Fac Agron Vet UFRGS*, v.6, p.73-83, 1963.
- Nascimento MGF, D'Angelis FHF, Nascimento ER, Resende AO.** Envolvimento de micoplasmas em vacas com distúrbios reprodutivos. *Acta Sci Vet*, v.33, p.195-199, 2005.
- Neves JP, Gonçalves PBD, Oliveira JFC.** Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. *Rev Bras Reprod Anim*, v.23, p.99-105, 1999.
- Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, Arthur GH.** Specific infectious diseases causing infertility in cattle. In: Noakes DE, Arthur GH, Parkinson TJ, England GCW (Ed.). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8.ed. London: Saunders Elsevier, 2001. p.473-509.
- Office International des Epizooties.** Collection and processing of bovine, small ruminant and porcine sêmen. In: *Terrestrial Animal Health Code*. Disponível em: <http://www.oie.int>. Acesso em: 15 set. 2011.
- Pellegrin AO, Figueiredo JF, Leite RC, Lage AP.** Imunofluorescência direta: um teste sensível e específico para o diagnóstico da campilobacteriose genital em touros. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2003. (Circular Técnica, 44.).
- Pellegrin AO, Lage AP, Sereno JRB, Ravaglia E, Costa MS, Leite RC.** Bovine Genital Campilobacteriosis in Pantanal, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Élev Méd Vét Pays Trop*, v.55, p.169-173. 2002.
- Ramos A, Guida HG.** Aglutininas anti-*Campylobacter fetus* em mucos vaginais de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. *Rev Bras Reprod Anim*, v.2, p.715, 1978. Resumo.
- Rocha FS, Jesus VLT, Torres HM, Gomes MJP, Figueiredo MJ, Nascimento ER, Ferreira T, Aquino MHC.** Investigação de *Campylobacter fetus* e *Trichomonas foetus* na mucosa prepucial de touros da região do Médio Paraíba, RJ. *Ciênc Rural*, v.39, p.1586-1589, 2009.
- Ruckerbauer GM, Malkin K, Mitchell D, Baulonger P.** Vibriosis: demonstration of *Vibrio fetus* organisms in preputial fluid by immunofluorescence and culture techniques. *Can J Comp Med*, v.38, p.321-327, 1974.
- Skirrow SZ, Bon Durant R.** Bovine Trichomoniasis. *Vet Bull*, v.58, p.591-603, 1988.
- Stoessel, F.** Las enfermedades venereas de los bovinos: trichomoniasis y vibriosis genital. Zaragoza: Acribia, 1982. 163p.
- Stynen APR, Pellegrin AO, Fóscolo CB, Figueiredo JF, Canella Filho C, Leite RC, Lage AP.** Campilobacteriose genital bovina em rebanhos leiteiros com problemas reprodutivos da microrregião de Varginha, Minas Gerais. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.55, p.766-769, 2003.
- Winter AJ, Samuelson JD, Elkana M.** A comparison of immunofluorescence and cultural techniques for demonstration of *Vibrios fetus*. *J Am Vet Med Assoc*, v.150, p.498-502, 1967.
-