

**PESQUISA DE *Campylobacter fetus* EM PREPÚCIO DE TOUROS, EM UMA
PROPRIEDADE RURAL DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

Leandro Babosa Bettero¹, Nielton César Ton², Graziela Barioni³, Marcus Alexandre Vaillant
Beltrame⁴

1. Médico veterinário, Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha
2. Graduando de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha
3. Médica veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha (UVV), 29.102-770, Vila Velha, ES, Brasil, E-mail: gbarioni@uvv.br (autor correspondente)
4. Médico veterinário, mestrando, professor do Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha (UVV)

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, campilobacteriose genital, isolamento bacteriano, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

***CAMPYLOBACTER FETUS* IN PREPUTIAL FLUID OF BULLS FROM ESPÍRITO
SANTO, BRAZIL**

Bovine genital campylobacteriosis (BGC) is a sexually transmitted disease, which causes major economic losses due to reproductive failure in affected animals. It is not easily diagnosed because of the microaerophilic nature of its causative agent, *Campylobacter fetus*. This study assesses *C. fetus* in preputial bull fluid collected by scraping of smegma for isolation of the bacteria in selective medium. Animals were aged 42 to 60 months, were not sexually active, and were raised in the municipality of Piúma, Espírito Santo. *C. fetus* bacteria was not detected in any of the samples, although *Pseudomonas aeruginosa* (34,5%) and *Klebsiella* spp. (12,5%) strains increased. Some factors may have influenced these results, such as: age of animals, lack of sexual activity, confinement, healthy environments, difficulty to isolate bacteria, and interference of other microorganisms in culture. More sensitive and practical techniques are needed to better diagnose this venereal disease.

KEYWORDS: Bacterial isolation, bovine, genital campylobacteriosis, *Pseudomonas aeruginosa*

INTRODUÇÃO

Dentre os mais importantes fatores associados com a rentabilidade da pecuária bovina, a reprodução afeta mais diretamente o nível de produtividade, sendo dependente de fatores nutricionais, genéticos, sanitários e, sobretudo, um manejo adequado. Doenças como leptospirose, BVD, IBR, brucelose e campilobacteriose, apresentam altas taxas de abortos ou manifestações clínicas que despertam grande interesse dos criadores e técnicos por prejudicarem a performance reprodutiva dos rebanhos (PELLEGRIN, 2002).

A campilobacteriose genital bovina (CGB), anteriormente conhecida como vibriose bovina, é uma doença do trato genital dos bovinos causada pela bactéria *Campylobacter fetus* (subsp. *veneralis* e *fetus*) um bacilo gram-negativo, fino, curvo, em forma de vírgula ou espiral, móveis por flagelo polar e não esporogênico (DERIVAUX, 1980; HIRSH, 2003).

A campilobacteriose é uma doença venérea que acomete bovinos, ovinos, caprinos e suínos (QUINN et al., 2005). Nas fêmeas a bactéria localiza-se no lúmen vaginal, cérvix, útero e oviduto provocando morte embrionária, repetição de cio, abortamento e infertilidade. (JESUS, 2003). Nos machos a bactéria se localiza preferencialmente na mucosa prepucial, glândula, e porção distal da uretra. Os touros são portadores assintomáticos sendo assim, o principal transmissor e disseminador da doença no rebanho (LAGE & LEITE, 2000).

De acordo com REHAGRO (2004), pelo menos 25% dos bovinos com idade reprodutiva do rebanho brasileiro são positivos para a CGB. Isso significa que pelo menos 18 milhões de touros, vacas e novilhas estão acometidos pela doença. Como é uma doença de difícil diagnóstico, apesar de estar presente em todas as regiões, em regra os criadores não têm conhecimento de sua existência. Portanto, o presente trabalho teve o objetivo que pesquisar o *Campylobacter fetus* em touros numa propriedade rural no Estado do Espírito Santo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 16 touros da raça Nelore de genética superior, machos, inteiros, sem histórico de atividade sexual, com idade entre 42-60 meses, criados confinados em estábulo, cuja limpeza e higiene era realizada diariamente. Estes eram provenientes de uma propriedade localizada no município de Piúma-ES.

Realizou-se a colheita das amostras em novembro de 2007. Após massagem peniana e prepucial para estimular a micção no animal e diminuir a contaminação da amostras, colhia-se

o esmegma prepucial por meio de escarificação da mucosa prepucial e peniana com auxílio de bacia de inseminação artificial estéril. A pipeta era introduzida no prepúcio e em movimentos de vai-e-vem escarificava-se a mucosa. O material foi aspirado para dentro da pipeta com auxílio de uma seringa de 60mL acoplada na outra extremidade. Em seguida, a extremidade da bacia era cortada e acondicionada em tubo de ensaio estéril contendo 6mL de Caldo BHI enriquecido com suplemento seletivo de Skirrow (BRIDSON, 2000). Realizaram-se três colheitas por animal, nos dias 0, 7 e 21. As amostras eram acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas e levadas ao Laboratório de Microbiologia Veterinária do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Vila Velha-UVV num prazo máximo de seis horas para processamento.

No laboratório, os tubos foram incubados à 37°C/72 horas, em microaerofilia utilizando-se kit gerador de atmosfera adequada (Microaerobac[®], Probac do Brasil). Após este período, 30µL do caldo de cada amostra foi espalhado na superfície de placas de ágar Columbia acrescido de 8-10% de sangue eqüino, acrescido de suplemento seletivo de Skirrow[®] (OXOID). Outros 30 µL de cada amostra eram espalhados em placas de ágar Columbia acrescido de 8-10% de sangue eqüino, no entanto, sem suplementação seletiva. As placas foram incubadas a 37°C/5 dias em microaerofilia (GROFF, 2005). Cultura e testes de identificação foram realizados posteriormente para confirmação e caracterização das espécies, naquelas colônias que apresentaram características compatíveis com *Campylobacter spp.* (KONEMAN, 2001; HIRSH, 2003; OIE, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 48 amostras de esmegma prepucial colhidas a partir dos 16 touros, em nenhuma delas foi possível o isolamento da bactéria *Campylobacter sp.* Esse número pode ser explicado em função de 81% (13/16) dos touros utilizados na pesquisa terem idade inferior a 5 anos. Pois, segundo LAGE & LEITE (2000), os animais que são mais susceptíveis para a campilobacteriose são aqueles com idade superior a 4 anos, devido ao maior número e tamanho das criptas do epitélio peniano e prepucial, fator este que proporciona um ambiente microaerófilo propício à multiplicação e transmissão da bactéria. Um fato que corrobora com o achado, foi o descrito por DERIVAUX (1980), em que considera touros jovens mais resistentes à infecção, e, portanto, a prevalência nesta categoria de animais torna-se menor.

Dos 16 animais pesquisados apenas um já havia apresentado atividade sexual, e os demais, eram criados sem permitir atividade sexual para posterior comercialização como

reprodutores. Embora não seja a única maneira, DERIVAUX (1980) descreve que a transmissão venérea é uma das formas mais importantes de disseminação da bactéria no rebanho.

Os animais encontravam-se estabulados em recinto diariamente higienizado, e por permanecerem amarrados em cabrestos individuais constantemente, não havia contato permanente entre os animais. Segundo LAGE & LEITE (2000) apesar da transmissão ocorrer principalmente por via venérea, também pode ocorrer por contato direto com cama contaminada. Entretanto, por existirem apenas animais com idades abaixo de cinco anos associada à constante limpeza do local, possivelmente esses justifiquem a ausência do patógeno.

Mesmo sendo uma técnica preconizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o isolamento e identificação do agente é difícil, devido a reduzida viabilidade do agente nas amostras colhidas. Esta afirmativa é reforçada pela pesquisa realizada por GROOF (2005) no RS, que detectou apenas 2,8% (8/277) dos animais positivos na cultura bacteriana para *C. fetus*, enquanto que 24,5% (68/277) destas mesmas amostras foram positivas na técnica da PCR.

Em 17 (35,4%) amostras examinadas, isolou-se *Pseudomonas aeruginosa*, e em 6 (12,5%) amostras houve crescimento de *Klebsiella spp.* permitindo constatar a interferência de tais cepas no meio de cultura. DERIVAUX (1980) relata sobre a dificuldade de isolamento da bactéria, mesmo quando são utilizados meios com enriquecimento seletivo, em função de microrganismos contaminantes como *Pseudomonas spp.* apresentarem multirresistência aos antibióticos, sendo capazes de crescer nestes meios, competindo com o *C. fetus*.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho pode-se concluir que: Não foi isolado o *Campylobacter fetus*, nas 48 amostras de esmegma prepucial de touros estabulados, com idade entre 42-60 meses. Ocorreu o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella spp.* em 35,4% (17/48) e 12,5% (6/48) das amostras analisadas, respectivamente. Fatores ambientais como confinamento dos animais, associado a higidez das instalações podem ter favorecido os resultados encontrados. Mesmo sendo uma técnica preconizada pelo MAPA, devem-se utilizar outras técnicas que possam ser aliadas ao isolamento bacteriano, favorecendo o aumento da sensibilidade na identificação do *Campylobacter fetus*.

REFERÊNCIAS

- BRIDSON, E. . **Manual Oxoid**. São Paulo: Oxoid Brasil LTDA, p. 2-63 – 2-73, 2000.
- DERIVAUX, J. Vibriose bovina. In:____. **Reprodução dos animais domésticos**. Zaragoza: Acribia, cap. 4, p. 394-403, 1980.
- GROFF, M. A. C. **PCR para o diagnóstico da campilobacteriose genital bovina**. 2005. 22p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- HIRSH, D. C. Campylobacter – Arcobacter (Sistema reprodutivo). In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 36, p. 181-184, 2003.
- JESUS, V. L. T. Doenças da reprodução e doenças que interferem na reprodução. In: PALHANO, H. B.; JESUS, V. L. T.; TRÉS, J. E.; FERRAZ, J. C. F. J.; ALVES, P. A. M. **Reprodução de bovinos**. Porto Alegre: A Hora Veterinária, p. 63-66, 2003.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. Jr. Bacilos Gram-negativos curvos e fermentadores oxidase-positiva: Campylobacteriaceae e Vibrionaceae. In:____ **Diagnóstico microbiológico**. 5.ed. Rio de Janeiro: Medisi, cap.6, p. 331-364, 2001.
- LAGE, A. P.; LEITE, R. C. Campilobacteriose genital bovina. **Pecuária de Corte**, v.100, p. 50-54, 2000.
- OIE (Organização Internacional de Epizootias). **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. Cap. 2.3.2.: Bovine genital campylobacteriosis: p.490-495, 2005.
- PELLEGRIN, A. O.; A campilobacteriose e a tricomonose são doenças reemergentes? **Embrapa**, Corumbá, MS, n. 41, p. 1-23, 2002.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELL, Y.; LEONARD F.C. Gênero Campylobacter. In:____ **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, cap. 28, 29 e 54, pág. 166-176, 309-313, 2005.

REHAGRO, **Campilobacteriose genital bovina**. artigos técnicos, 2004. Acesso em 25 de abril de 2008. Disponível em: <<http://www.rehagro.com.br/>>. Acesso em 20 de março de 2008.