

Coleta de Material Para Diagnóstico das Doenças Infecciosas Que Interferem Com a Reprodução de Bovinos



O diagnóstico de problemas reprodutivos de bovinos é uma tarefa árdua e muitas das vezes sem o resultado esperado, em função do grande número de fatores ambientais, de manejo, nutricionais e infecciosos envolvidos.

A avaliação dos parâmetros nutricionais, ambientais e de manejo são muito importantes para se diferenciar problemas de causa infecciosa daqueles advindos de deficiências nutricionais ou de falhas no manejo geral ou reprodutivo dos animais.

A melhora no diagnóstico de doenças infecciosas e um maior número de informações mais precisas e rápidas para o produtor e para o técnico podem ser conseguidos com o emprego de alguns cuidados relativos a coleta e envio de material e aos testes requisitados devem ser observados com atenção.

Nos casos de aborto, deve-se enviar ao laboratório o feto abortado ou seus órgãos (cérebro, pulmões, linfonodo bronquial, rins, fígado, baço, conteúdo do abomaso e soro do feto), fragmentos de placenta e o soro da vaca, em dois momentos; quando do aborto e 21 a 30 dias após o mesmo. Os materiais devem ser colocados em recipientes separados e remetidos ao laboratório de preferência refrigerado, quando o tempo de transporte for inferior a 24 h, ou congelados a -20°C , para tempo de transporte superior. Em ambos os casos deve-se acondicionar os materiais de forma a manter a mesma temperatura durante todo o transporte. O material deve ser acompanhado do histórico dos problemas reprodutivos do animal e do rebanho. Nos casos em que for realizada a necrópsia do feto enviar também um laudo, descrevendo o mais minuciosamente possível os achados de necrópsia.

Ao se manusear o feto ou restos placentários sempre devem ser tomadas medidas de segurança como utilização de luvas, máscaras e óculos, pois vários agentes que causam abortos nos bovinos causam importantes zoonoses porque a pele e conjuntiva são importantes vias desses entrada do agente no organismo

Naqueles rebanhos onde existe grande número de repetições de cio ou outras manifestações clínicas que levem a suspeita de Campilobacteriose Genital Bovina ou Tricomonose Bovina deve-se coletar esmegma ou lavado prepucial de 10% dos touros do rebanho.

Esmegma pode ser coletado por raspado ou lavado prepucial. No primeiro caso, a mucosa do pênis e da bainha peniana é escarificada como uma pipeta de inseminação artificial e o material é aspirado por uma seringa ou pera acoplada na outra extremidade. Parte do material é colocado em meio de transporte para *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* e parte em meio para *Tritrichomonas foetus* ou a pipeta é selada e transportada sob refrigeração ao laboratório. No caso do lavado prepucial, 50 ml de solução salina tamponada (PBS) estéril é introduzida na bainha prepucial através de um tubo plástico estéril (equipo utilizado para hidratação parenteral) (Fig 1).

Corumbá, MS
Dezembro, 2003

Autores

Aiesca Oliveira Pellegrin

Med. Veterinária
Dr., Ciência Animal
Rua 21 de setembro, 1880,
CP 109, CEP 79320900
Corumbá MS

Romulo Cerqueira Leite

Med. Vet. Dr.; Prof Adjunto,
DMVP-EV- UFMG
Belo Horizonte, MG

Andrey P Lage

Med. Vet. Dr.; Prof Adjunto,
DMVP-EV- UFMG
Belo Horizonte, MG

Ernande Ravaglia.

Assis. Pesqu. 21 de
setembro, 1880, CP 109,
CEP 79320900
Corumbá MS



Fig 1. Equipamento para coleta de lavado prepucial.

Após introdução do PBS o orifício prepucial é fechado com uma das mãos e com a outra se massageia vigorosamente o prepúcio (Fig 2). Depois da massagem o frasco que continha o PBS é colocado em um nível abaixo do orifício prepucial e o lavado é recolhido por gravidade (Fig. 3) (Leite et al, 1995). Um aspecto importante a ser observado quando da coleta de lavado prepucial é que o touro deve ser colocado em repouso sexual por no mínimo 15 dias antes da coleta, obtendo-se maior sucesso no diagnóstico do *C. fetus* subsp. *venerealis* ou do *Trichomonas foetus* se forem realizadas duas ou três coletas, com intervalos de 15 dias, sendo que nestes o animal deve permanecer em descanso sexual de 15 dias, (Stoessel, 1982, Pellegrin et al., 1998, Lage & Leite, 2000).



Fig. 2. Coleta de lavado prepucial

Nas fêmeas, pode ser coletado muco cérvico-vaginal com pipeta de inseminação ou tampão absorvente (Fernandes e Dutra, 1979) (Fig. 4).

Para a pesquisa de *T. foetus* este material deve ser inoculado em meio de Rieck modificado (Guida et al., 1960) ou outro meio para o isolamento de *T. foetus* e enviado ao laboratório à temperatura ambiente. Isto é importante, pois, quando o material em meio de Rieck modificado é enviado em gelo ao laboratório, o *T. foetus* morre, o que muito dificulta sua identificação (Stoessel, 1982, Pellegrin et al., 1998).

O material para o diagnóstico de Campilobacteriose Genital Bovina pode ser enviado para cultura sob refrigeração e deve chegar ao laboratório em, no

máximo, seis horas. Para períodos maiores, este material pode ser inoculado em meio de transporte para *Campylobacter* e deve ser mantido à temperatura ambiente e ser trabalhado no laboratório dentro de, no máximo, dois dias após a coleta (Lander, 1990, Lage & Leite, 2000). Estes cuidados na coleta e transporte do material são de fundamental importância para a realização de uma tentativa de isolamento confiável.

Outra opção para o diagnóstico da Campilobacterose Genital Bovina é o envio do material refrigerado para a realização da imunofluorescência direta (IFD) (Figueiredo et al., 2002).



Fig. 3. Coleta de lavado prepucial.



Fig. 4. Equipamento para coleta de muco vaginal.

Para se confirmar suspeitas de outras doenças, pode-se coletar sangue de animais afetados e de animais que não apresentam problemas. O sangue deve ser coletado de preferência em tubo com vácuo (Fig. 5), o que, além de facilitar a coleta de material, propicia uma coleta estéril, diminuindo a hemólise e facilitando seu emprego em certas técnicas laboratoriais como a soroneutralização. Após a coleta de sangue o tubo deve permanecer em repouso por uma a duas horas em local protegido do sol e à temperatura ambiente. Após este período o soro deve ser separado do coágulo e colocado em outro tubo. Outra alternativa é colocar o tubo contendo o sangue coagulado na geladeira até o dia seguinte, quando, então, o soro será separado do coágulo e acondicionado em novo tubo. Após a separação do soro, este deve ser

congelado a -20°C e enviado ao laboratório a esta temperatura.



Fig. 5. Coleta de sangue em bovinos.

Nunca se deve enviar ao laboratório soro com o coágulo. O soro também pode ser enviado refrigerado (4°C) ao laboratório, desde que o tempo de transporte seja inferior a 24 h. Entretanto, após congelado, o soro deve ser mantido a -20°C , evitando-se o descongelamento do mesmo até sua chegada ao laboratório. É fundamental para um bom diagnóstico que o material seja bem identificado desde a coleta até o laboratório. Para isto deve-se utilizar material que não se solte dos tubos e que resista à água. Além disto, os tubos devem ser bem fechados para se evitar que o soro derrame durante o transporte.

Conclusões e Recomendações

O primeiro passo para o diagnóstico dos problemas reprodutivos de origem infecciosa é a análise dos dados reprodutivos dos rebanhos, com uma avaliação geral dos índices produtivos e reprodutivos dos animais e dos sinais clínicos apresentados por estes. Esta análise, associada com o histórico do problema no plantel, com as características clínicas e de perdas reprodutivas indicam as suspeitas e orientam a coleta adequada de material e os exames a serem requisitados. O auxílio do laboratório no diagnósticos de doenças infecciosas é de grande importância e algumas vezes imprescindível e os técnicos responsáveis devem ter a orientação de conduta de coleta de material mais adequada a solução de cada problema.

Referências Bibliográficas

- FIGUEIREDO, J.F., PELLEGRIN, A.O., FÓSCOLO, C.B., MACHADO, R.P., MIRANDA, K.L., LAGE, A.P.. Evaluation of direct immunofluorescent antibody test for the diagnosis of Bovine Genital Campylobacteriosis. *Revista Latinoamericana de Microbiologia* v. 44, p. 118-123, 2002.
- FERNANDES, J.C.T; DUTRA, V. Conservação de *Trichomonas foetus* em líquido amniótico. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v.7,p.149-151, 1979.
- GUIDA, H. G.; MEDEIROS, P.M.; PIZELLI, G.N. Conservação do *Trichomonas foetus* no meio de Rieck modificado. **Publicação Instituto de Zootecnia**, Rio de Janeiro, v.35, p. 1-7, 1960.
- LAGE, A.P. ; LEITE, R.C. Campilobacteriose genital bovina (Vibriose). **Pecuária de Corte**, v.100, p.50-54, 2000.
- LANDER, K.P. The development of a transport and enrichment medium for *Campylobacter fetus*. **British Veterinary Journal**, London, v.46, p.327-333, 1990.
- LEITE, R.C; HADDAD, J.P; COSTA, G.M; PELLEGRIN, A.O.; RIBEIRO, A.C.C.L. Técnica modificada para coleta de lavado prepucial de touros, para exame de tricomonose e ou campilobacteriose. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v. 19, p.434, 1995.
- LEITE, RC. **Avaliação de alguns métodos de diagnóstico e análise custo/benefício do controle da campilobacteriose bovina**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, UFMG. 1977. 38p. Dissertação de Mestrado.
- PELLEGRIN, A.O; LAGE, A.P.; LEITE, R.C. Tricomonose bovina: Um problema ainda não resolvido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 22, p.185-193, 1998.
- STOESSEL, F. **Las enfermedades venereas de los bovinos: Trichomoniasis y vibriosis genital**. Zaragoza, Acribia,1982. 163 p.

Circular Técnica, 45

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Pantanal
Endereço: Rua 21 de Setembro, 1880
Caixa Postal 109
CEP 79320-900 Corumbá, MS
Fone: 67-2332430
Fax: 67-2331011
Email: sac@cpap.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2003): formato digital

Comitê de Publicações

Presidente: Aiesca Oliveira Pellegrin
Secretário-Executivo: Marco Aurélio Rotta
Membros: Balbina Maria Araújo Soriano
Evaldo Luis Cardoso da Silva
José Robson Bezerra Sereno
Regina Célia Rachel dos Santos

Expediente

Supervisor editorial: Marco Aurélio Rotta
Revisão de texto: Mirane dos Santos Costa
Tratamento das ilustrações: Regina Célia R. Santos
Editoração eletrônica: Regina Célia R. Santos
Élcio Lopes Sarath