



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ESTUDO DA CAMPILOBACTERIOSE E TRICOMONOSE GENITAIS
BOVINA NO DISTRITO FEDERAL E GOIÁS

DIOGO RAMOS LEAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 68/2012

BRASÍLIA/DF
ABRIL DE 2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ESTUDO DA CAMPILOBACTERIOSE E TRICOMONOSE GENITAIS
BOVINA NO DISTRITO FEDERAL E GOIÁS

Aluno: Diogo Ramos Leal
Orientador: Prof. Dr. Jairo Pereira Neves

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 68/2012

BRASÍLIA/DF
ABRIL DE 2012

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

LEAL, D.R. **Estudo Da Campilobacteriose e Tricomomose Genitais Bovina no Distrito Federal e Goiás**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012, 90 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando a reprodução desta dissertação de Mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pela autora à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. A autora e o seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de Mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito da autora ou de seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

LEAL, D.R. **Estudo Da Campilobacteriose e Tricomomose Genitais Bovina no Distrito Federal e Goiás**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012, 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2012.

1. Bovinos. 2. Campilobacteriose. 3. Tricomomose. I Título.

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTUDO DA CAMPILOBACTERIOSE E TRICOMONOSE GENITAIS
BOVINA NO DISTRITO FEDERAL E GOIÁS**

DIOGO RAMOS LEAL

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA
AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO
DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
ANIMAIS.**

APROVADA POR

**JAIRO PEREIRA NEVES, DOUTOR (Universidade de Brasília)
(Orientador)**

**CRISTIANO BARROS DE MELO, DOUTOR (Universidade de Brasília)
(Examinador interno)**

**RAFAEL GIANELLA MONDADORI, DOUTOR (Universidade Federal de Pelotas)
(Examinador externo)**

BRASÍLIA/DF, 25 de ABRIL DE 2012

AGRADECIMENTOS

Aos meus Orixás e Guias pela proteção, desafios e forças durante a jornada desta vida.

À minha mãe e ao meu pai, por todos os anos de esforços sem medidas para que eu pudesse trilhar meu caminho, sou eternamente grato por ser quem eu sou.

À minha irmã, meus avôs e todos os meus familiares pelo apoio, exemplo e por serem sempre uma referência, um porto seguro em minha vida.

À Karina pela companhia, amor, dedicação, compreensão, incentivo e momentos duradouros e inesquecíveis de distração e reflexão.

Ao meu orientador (desde 2006), Prof. Dr. Jairo Pereira Neves pelos ensinamentos, confiança e apoio, fundamentais para a realização deste trabalho e para minha formação pessoal e profissional. Pela dedicação além de suas atribuições de orientador.

À Dra. Karina Miranda pelos conhecimentos transmitidos, amizade, apoio e sugestões, que contribuíram para meu conhecimento e para o enriquecimento deste trabalho. Pelo exemplo de ação frente às adversidades da pesquisa e dos pesquisadores.

Ao Dr. Alexandre Floriani Ramos pela oportunidade de trabalho com os Curraleiros, pela confiança e sugestões que contribuíram muito para este trabalho.

Ao grupo de pesquisa da UFG, representado pela Dra. Ivete Moura, pelos conhecimentos trocados, apoio e momentos de descontração durante as visitas aos criatórios de Curraleiros.

Ao Dr. Rômulo Cerqueira Leite pelas sugestões na adequação do trabalho de coleta em frigoríficos, pelo apoio durante meu estágio na Escola de Veterinária da UFMG e pelo fornecimento do conjugado para realização do diagnóstico da Campilobacteriose.

Ao Dr. Maurício Machain Franco pelo auxílio na execução deste trabalho com a viabilização de empréstimo de equipamentos essenciais.

À Gabriela, pela amizade, apoio e companheirismo durante todo o mestrado. Um exemplo de dedicação, esforço e objetividade.

Aos amigos mais antigos, ausentes ou sumidos, Sou um pouco de cada um de vocês.

Aos colegas de mestrado, professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais, agradeço pela dedicação e companhia durante o curso.

À CAPES/PROCAD-NF 2007 Gerais pelo suporte financeiro durante o estágio na Universidade Federal de Minas Gerais.

Ao Edital CNPq /MAPA/SDA N° 64/2008 pelo suporte financeiro da bolsa e custeio dos projetos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho e do meu mestrado.

ÍNDICE

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	xi
CAPÍTULO 1	1
INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	1
1 INTRODUÇÃO	2
1.2 Objetivo	3
1.3 Objetivos Específicos	3
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Campilobacteriose Genital Bovina	4
2.1.1 Agente	6
2.1.2 Patogenia.....	7
2.2 Tricomonose Genital Bovina	12
2.2.1 Agente	12
2.2.2 Patogenia.....	13
2.3 Diagnóstico da Campilobacteriose e Tricomonose Genitais Bovina	18
2.3.1 <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	20
2.3.2 <i>Tritrichomonas foetus</i>	23
2.3.3 Coleta das amostras	26
2.4 Tratamento.....	29
2.4.1 CGB	29
2.4.2 TGB	30
2.5 Imunoprofilaxia	31
2.5.1 CGB	31
2.5.2 TGB	32
2.6 Medidas de Prevenção para Campilobacteriose e Tricomonose Genitais Bovina	33
2.7 Medidas de Controle da Campilobacteriose e Tricomonose Genitais Bovina	34
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
CAPÍTULO 2	49
PREVALÊNCIA DA CAMPILOBACTERIOSE E DA TRICOMONOSE GENITAIS BOVINA EM ABATEDOUROS- FRIGORÍFICOS NO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO.....	49
1 RESUMO	50
2 ABSTRACT	51

3 INTRODUÇÃO	52
4 MATERIAL E MÉTODOS	53
4.1 Amostragem	53
4.2 “Swabs” de útero ou prepúcio	54
4.3 Reação de Imunofluorescência direta.....	54
4.4 Cultivo e isolamento de <i>T. foetus</i>	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
6 CONCLUSÕES.....	56
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
CAPÍTULO 3	61
ESTUDO DA CAMPILOBACTERIOSE E TRICOMONOSE GENITAIS BOVINA EM REBANHOS DA RAÇA CURRALEIRO PÉ-DURO	61
1 RESUMO	62
2 ABSTRACT	63
3 INTRODUÇÃO	64
4 MATERIAL E METODOS	66
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
6 CONCLUSÕES.....	71
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
CAPÍTULO 4	78
CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO	79

RESUMO

A Campilobacteriose Genital Bovina (CGB) e a Tricomonose Genital Bovina (TGB) são doenças de transmissão venérea que têm como algumas de suas características a ausência de sinais clínicos nos touros e a condição de portadores assintomáticos. Nas fêmeas, as principais manifestações são retorno ao estro em intervalos irregulares e aumento do intervalo de partos, esses sinais podem fazer com que essas doenças não sejam detectadas de imediato e permaneçam no rebanho trazendo prejuízos. A CGB e a TGB são responsáveis por perdas econômicas devido principalmente ao descarte e necessidade de reposição de animais subférteis, à queda na produção de bezerros e ao aumento no intervalo de partos. Exames negativos para as duas doenças são exigidos para o ingresso de um animal em centrais de coleta e processamento de sêmen, bem como em transações comerciais internacionais. Devido à importância dessas doenças, o objetivo deste trabalho foi estudar a prevalência da CGB e da TGB na região do Distrito Federal e entorno, bem como em criatórios da raça Curraleiro Pé-Duro em fazendas localizadas nos estados do Distrito Federal e Goiás. Para detecção da CGB foi utilizado o exame de imunofluorescência direta (IFD) e para TGB o cultivo em meio de Diamond. Os estudos demonstraram a presença da CGB em alguns animais abatidos em frigoríficos do Distrito Federal e entorno e em alguns rebanhos de Curraleiro Pé-Duro, determinando a necessidade de diagnóstico dessa enfermidade em rebanhos que apresentem baixos índices reprodutivos, bem como em rebanhos que comercializem reprodutores. O cultivo para TGB não apresentou resultados positivos, o que não significa a ausência do agente nesses rebanhos, mas levanta a necessidade de estudos mais amplos com outros métodos mais sensíveis de diagnóstico. Medidas de prevenção e controle da CGB e da TGB, bem como algumas práticas de manejo foram avaliadas e apresentadas neste trabalho.

Palavras-chave: *Campylobacter fetus*; *Tritrichomonas foetus*; Prevalência; Conservação; Recursos genéticos.

ABSTRACT

The bovine genital campylobacteriosis (BGC) and the bovine genital trichomoniasis (BGT) are venereal transmitted diseases which absence of clinical signs in bulls and the male carrier state are some of their characteristics. In females, the main manifestations are return to estrus (repeated breeding) at irregular intervals and elongation of the calving interval, these signals can be not detected and remain in the herd resulting in economic loss. The BGC and the BGT are responsible for economic losses due to the need for disposal and replacement of infected animals, the reduction in calving rate and the increase in calving interval. Negative tests are required for a bull to enter in an artificial insemination centre, as well as in international trades. The aim was to study the prevalence of BGC and BGT in the region of the Federal District and the surrounding areas, as well as herds of Curraleiro Pé-Duro breed on farms located in the states of the Federal District and Goiás. To detect BGC, it was used the direct immunofluorescence (DIF) survey and to BGT cultivation on Diamond's medium. The results have shown the presence of BGC in animals at slaughterhouses in the Federal District and surrounding areas and in some herds of Curraleiro Pé-Duro, exposing the need for the diagnosis of disease in herds that have low reproductive rates, as well as trading in livestock breeding. The cultivation for BGT did not show positive results, which does not mean the absence of the agent in these herds, but it alerts to the necessity in further studies with others diagnostic methods. Measures of prevention and control of BGC and BGT and some management practices have been reviewed and are presented in this study.

Key-words: *Campylobacter fetus*; *Tritrichomonas foetus*; Prevalence; Conservation; Genetic Resources.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

C. fetus – *Campylobacter fetus*

C. fetus subsp. fetus – *Campylobacter fetus* subespécie *fetus*

C. fetus subsp. venerealis – *Campylobacter fetus* subespécie *venerealis*

CCO – Complexo cummulus-oócito

CGB – Campilobacteriose Genital Bovina

FIV – Fertilização *in vitro*

IA – Inseminação artificial

IETS – *International Embryo Transfer Society* (Sociedade Internacional de Transferência de Embrião)

IFD – Imunofluorescência Direta

Min. – Minutos

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal

PBS - Phosphate Buffered Saline (Tampão fosfato salino)

PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase)

PFGE – *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (Eletroforese em gel de campo pulsado)

PP – Porcentagem de prenhez

T. foetus – *Tritrichomonas foetus*

TGB – Tricomonose Genital Bovina

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo, com mais de 200 milhões de cabeças, além disso, desde 2004, assumiu a liderança nas exportações com um quinto da carne comercializada internacionalmente em mais de 180 países (IBGE, 2010; MAPA, 2011). De acordo com a Pesquisa Pecuária Municipal, disponibilizada pelo IBGE (IBGE, 2010), a região Centro-Oeste concentra a maior parte do efetivo bovino nacional, com cerca de 35% do rebanho nacional. Apesar do processo de incorporação de tecnologias em alguns setores do agronegócio, a pecuária nacional, em termos de produtividade teve um aumento aquém das suas reais potencialidades, pois os sistemas de produção são heterogêneos quanto à incorporação de tecnologias técnicas e administrativas (Neves et al., 1999; Barbosa et al., 2009).

Dentre os importantes fatores associados com a rentabilidade da pecuária bovina, destaca-se a reprodução, que afeta diretamente a produtividade dos rebanhos, sendo dependente de fatores nutricionais, genéticos, sanitários e, sobretudo, de um manejo adequado (Neves et al., 1999). As doenças da reprodução causam prejuízos à produtividade dos rebanhos brasileiros e afetam negativamente índices que medem a eficiência reprodutiva, como: número de serviços por concepção intervalo de partos, taxa de não retorno ao estro, taxa de parição entre outros (Pellegrin et al., 1997; Junqueira & Alfieri, 2006).

Alterações reprodutivas como retorno ao estro e aumento no intervalo de partos são pouco perceptíveis em rebanhos criados extensivamente sem acompanhamento ou controle zootécnico, o que dificulta a suspeita e identificação de doenças que possam estar acarretar prejuízos aos produtores. A Campilobacteriose Genital Bovina (CGB) e a Tricomonose Genital Bovina (TGB) são duas doenças que geralmente provocam essas alterações e são responsáveis por perdas econômicas devido ao descarte e necessidade de reposição de animais

sub-férteis, queda na produção de bezerros, aumento no intervalo de partos, entre outros (Dekeyser, 1984).

A CGB e a TGB são doenças com distribuição mundial e são mais comuns em regiões nas quais é praticada a monta natural (BonDurant, 2005; Sager et al., 2007). Segundos dados disponibilizados pela OIE, as doenças estão presentes em países como Argentina, África do Sul, Austrália, Brasil, Canadá, Colômbia, Estados Unidos da América, Espanha, França e Nova Zelândia (OIE, 2011a). No Brasil, a CGB e TGB possivelmente estão presentes em todos os estados da federação em função das práticas de manejo reprodutivo utilizadas no país, no entanto, dificuldades de envio e análise laboratorial de amostras, número reduzido de laboratórios com capacidade técnica para realização do diagnóstico das duas doenças e ausência de diagnóstico sistemático fazem com que a real situação da CGB e da TGB seja desconhecida da maioria dos técnicos e proprietários (Alves et al., 2011).

Neste contexto, o conhecimento da ocorrência da doença em rebanhos da região Centro-Oeste é importante para o estabelecimento de programas de prevenção e controle a fim de contribuir para o aumento dos índices reprodutivos e produtivos da região que detém a maior parte do efetivo bovino do país.

1.2 Objetivo

O objetivo deste trabalho foi estudar a prevalência da Campilobacteriose e da Tricomonose Genitais Bovina no Distrito Federal e entorno.

1.3 Objetivos Específicos

Estudar a prevalência da Campilobacteriose e Tricomonose Genitais Bovina nos animais abatidos em frigoríficos na região do Distrito Federal e entorno;

Estudar a frequência das duas doenças em criatórios da raça Curraleiro Pé-Duro no Distrito Federal e Goiás, a fim de determinar a influência das enfermidades nos índices produtivos e reprodutivos dos rebanhos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Campilobacteriose Genital Bovina

O agente da Campilobacteriose Genital Bovina (CGB), *Campylobacter fetus*, foi identificado pela primeira vez por McFadyean & Stockman em 1913. Eles descobriram um vibrião que parecia ser responsável por abortos em ovelhas e conseguiram reproduzir o aborto experimentalmente em vacas inoculadas com o agente (Véron & Chatelain, 1973). Smith (1918) obteve culturas de um espirilo microaerófilo em casos de abortos em vacas e notou semelhanças nas características de cultivo e na ausência de efeitos negativos em cobaias, assim como observado e relatado por McFadyean & Stockman em 1913.

O isolamento de vibriões ou espirilos a partir de material de aborto (feto, anexos fetais e placenta) e a ausência do isolamento de *Brucella abortus* colocaram o vibrião como possível agente etiológico de doenças das membranas fetais em bovinos, com isso, diversos estudos foram realizados a fim de comprovar a relação entre a presença do agente e doenças nos anexos fetais, placenta e casos de abortos (Smith 1918; Smith 1919; Smith & Taylor, 1919; Smith et al., 1920; Smith, 1923).

Smith & Taylor (1919) denominaram o micro-organismo de *Vibrio fetus*, segundo os autores, a designação *vibrio* era mais aceita para formas pequenas, em formato de vírgula e *spirillum* para as formas distintamente em espiral. A nomenclatura sugerida pelos autores foi baseada na predominância de micro-organismos em forma de vírgula sobre a forma espiralada, especialmente em culturas jovens. *Vibrio fetus* diferia fenotípica e geneticamente das espécies do gênero *Vibrio* e por essa razão Sebald e Véron em 1963 propuseram um novo gênero, *Campylobacter*, com *C. fetus* subespécie *fetus* como a espécie padrão (Véron & Chatelain, 1973). O nome *Campylobacter* deriva da palavra grega para bastonete curvado

(Penner, 1988). A enfermidade antes conhecida como Vibriose, passou a ser denominada Campilobacteriose.

No Brasil, a primeira descrição do isolamento do agente causador da então denominada vibriose (*Vibrio fetus*) foi feita por D'Ápice em 1956 a partir do conteúdo estomacal de um feto abortado (Pellegrin, 2002), relatando a presença da doença no rebanho nacional. Desde então diversos trabalhos realizados relataram a frequência da CGB em rebanhos de muitos estados brasileiros (Tab. 1.1), a distribuição da doença é ampla, possivelmente pelo manejo reprodutivo utilizado no país, a monta natural, que constitui um dos fatores de risco para propagação e manutenção das doenças venéreas em rebanhos (BonDurant, 2005).

Tabela 1.1 – Estudos da frequência de Campilobacteriose Genital Bovina no período de 1955 a 2009 em alguns estados brasileiros

Ano ^a	Estado	Autores	Método de diagnóstico ^b	Índice (%)
1955	SP	D'Apice (1956)	I	Primeiro relato
1960-1961	RJ	Guida et al. (1960/1961)	MA	3,5
1960	RS	Mies Filho (1960)	MA	27
1963	RS	Mies Filho (1963)	MA	53,8
1967	SP	Castro et al. (1967)	MA	8,2
1971	PR,RS,MG	Castro et al. (1971)	MA	8,0
1976	BA	Costa (1976)	MA	66,9
1974 a 1977	MG	Leite (1977)	IFD	28,9
1969 a 1976	RJ	Ramos & Guida (1978)	MA	12
1986	SP	Genovez et al. (1986)	I	23,9
1976 a 1996	MG	Lage et al. (1997)	IFD	27,9
1995 a 1996	MS	Pellegrin et al. (2002)	IFD	52,3
1996 a 1997	MG	Jesus et al. (1999)	MA	46,9
1996 a 1997	RJ	Jesus et al. (1999)	MA	22,3
1996 a 1997	MG	Jesus et al. (1999)	I	16,7
1996 a 1997	RJ	Jesus et al. (1999)	I	42,3
1998	MG	Stynen et al. (2003)	IFD	25,5
2000	BA, GO, MA, MT, MS, MG, PA, PR, RS, RO, SP e TO	Miranda (2005)	IFD	19,7
2006	MG	Freitas et al. (2006)	IFD	0
2007	ES	Bettero et al. (2009)	I	0
2009	RJ	Rocha et al. (2009)	IFD/I	35,9

Fonte: Miranda (2005), modificada.

^a Ano de realização do estudo

^b I = Isolamento, MA = Muco-aglutinação, IFD = Imunofluorescência direta

2.1.1 Agente

O gênero *Campylobacter* compreende bacilos delgados, móveis, gram-negativos, com um ou dois flagelos polares e 0,5 a 8 μm de comprimento e 0,2 a 0,5 μm de largura com células caracteristicamente curvadas, espiraladas, em formato de “s” ou asa de gaivota. São bactérias não fermentativas, oxidase-positivas, estritamente microaerófilas e requerem atmosfera com elevada concentração de CO_2 , cerca de 5 a 10% e baixa concentração de oxigênio (Penner, 1988; Quinn et al., 1994; Quinn et al., 2001; Madigan et al., 2010). O movimento do micro-organismo é promovido por um flagelo polar e apresenta características de movimento semelhante à de um saca-rolhas (Hoffer, 1981; Penner, 1988; Vandamme, 2000). O flagelo é de duas a três vezes maior que o comprimento da célula (Smibert, 1978)

Segundo Smith & Taylor (1919), o micro-organismo observado mediante coloração com azul de metileno alcalino tem, provavelmente, não mais do que 0,2 a 0,3 μm de diâmetro e 1,5 a 2 μm de comprimento na forma mais curta. Relataram ainda que o tamanho comumente observado em fluidos fetais é de 4 a 5 μm de comprimento. A presença do flagelo também foi descrita por esses autores, eles afirmaram que o número de organismos com um único flagelo polar é maior do que o de organismos com flagelos nos dois pólos. Provavelmente as formas bipolares estão entrando em processo de divisão e as formas unipolares já se dividiram.

A espécie *C. fetus* está dividida em duas subespécies: *C. fetus* subsp. *fetus* e *C. fetus* subsp. *venerealis*, segundo Penner (1988), essa classificação teve origem na publicação de Florent em 1959, na qual identificou dois organismos diferentes pelas suas características bioquímicas e patogênicas, e foram atribuídos a duas variedades de cepas. As subespécies diferem entre si quanto à epidemiologia e a importância clínica (Schulze et al., 2006).

C. fetus subsp. *fetus* é um patógeno zoonótico e causa infecções sistêmicas oportunistas em humanos, particularmente em pacientes gestantes, imunossuprimidos ou com outras doenças graves (Fujimoto, 2003). É conhecido como causador de aborto esporádico em ovinos e bovinos de transmissão não venérea (Smibert, 1978; Karmali & Skirrow, 1984), o agente é encontrado no trato intestinal de bovinos e ovinos e pode ser isolado no prepúcio de touros, normalmente como resultado de contaminação fecal (Wagenaar et al., 2001; Campero et al., 2005). Acredita-se que a infecção tenha origem na colonização do intestino pela bactéria adquirida por meio da ingestão de alimentos ou água contaminados com fezes, fetos abortados ou descargas vaginais de animais que abortaram (Penner, 1988). Na Argentina, *C.*

fetus é a segunda bactéria mais isolada a partir de fetos abortados, a maioria de rebanho de corte e *C. fetus* subsp. *fetus* é mais prevalente do que *C. fetus* subsp. *venerealis* (Campero, 2003).

C. fetus subsp. *venerealis* é o agente causador da CGB. Algumas das características desse micro-organismo são o forte tropismo pelo trato genital bovino, a não sobrevivência no trato intestinal bovino e a esterilidade ou aborto enzoóticos (Karmali & Skirrow, 1984; On & Harrington, 2001; Schulze et al., 2006). A subespécie é adaptada ao trato genital bovino e sua transmissão é primariamente venérea. Além disso, o agente não tem sido associado às infecções humanas (Penner, 1988; Salama et al., 1992).

A divisão da espécie *C. fetus* foi baseada nas doenças causadas pelas duas cepas em questão. On & Harrington (2001) afirmaram que a combinação entre os métodos de identificação (fenotípica, PCR e eletroforese em gel de campo pulsado – PFGE) sustentam a divisão taxonômica da espécie, no entanto o uso de mais de um método é necessário, pois a identificação precisa ainda é problemática. Assim sendo, diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de aplicar ou aprimorar técnicas moleculares na diferenciação das subespécies (Salama et al., 1992; Wagenaar et al., 2001; Vargas et al., 2003; Schulze et al., 2006; Moolhuijzen et al., 2009; Zhao et al., 2010; Stynen et al., 2011).

2.1.2 Patogenia

A CGB é uma doença infecciosa venérea causada pela bactéria *C. fetus* subsp. *venerealis* e é caracterizada principalmente por infertilidade e morte embrionária, evidenciadas pela repetição do estro a intervalos irregulares, aborto nas fêmeas (Dekeyser, 1986) e infecção assintomática nos machos (Hoffer, 1981; Foster & Ladds, 2007), como é observado nas doenças venéreas da maioria das espécies domésticas, a infecção no macho é limitada e o touro assume a condição de portador assintomático (Rae & Crews, 2006).

Os touros comumente infectam-se ao acasalarem-se com fêmeas infectadas, mas o contato com equipamentos de coletas de sêmen, outros fômites e cama contaminada, também, podem servir como fontes de infecção (Hoffer, 1981; Dekeyser, 1986; Pellegrin, 2002; Yaeger & Holler, 2007). A infecção é mais difícil de tornar-se permanente em touros com menos de quatro a cinco anos de idade. Touros mais velhos têm mais chances de desenvolverem o estado de portadores permanentes do que touros jovens, possivelmente

devido ao aumento no número e na profundidade das criptas epiteliais do pênis e prepúcio. Com o avanço da idade o ambiente prepucial torna-se mais favorável à colonização por *C. fetus* subsp. *venerealis* (Hoffer, 1981; Dekeyser, 1986; Yaeger & Holler, 2007; Foster & Ladds, 2007).

Normalmente, nas infecções por *C. fetus* subsp. *venerealis*, não são observadas anormalidades ou sintomas locais (prepúcio) e sistêmicos. Histologicamente observa-se uma infiltração difusa de células mononucleares na lâmina própria, células plasmáticas são localizadas geralmente agrupadas no ápice das papilas dérmicas, especialmente em touros velhos (Hoffer, 1981; Dekeyser, 1986). No entanto, não há estimulação antigênica suficiente para a produção de anticorpos o que pode ser a causa da sobrevivência prolongada do agente no ambiente prepucial (Hoffer, 1981). Portanto, o touro atua como vetor mecânico do agente e também é a principal fonte de infecção do rebanho (Moynihan & Stovell, 1955; Noakes et al., 2001).

Não são observadas alterações comportamentais, na qualidade do sêmen ou na fertilidade dos machos infectados (Eaglesome et al., 1995; Noakes et al., 2001). Shisong et al. (1990) não observaram redução significativa na motilidade espermática em amostras de sêmen bovino experimentalmente contaminadas com *C. fetus* subsp. *venerealis* e incubadas com mescla de antibióticos. Apesar disso, recentemente Bar et al., (2008) incubaram sêmen ovino com *C. fetus* subsp. *fetus*, *Escherichia coli* e *Erwinia amylovora* e somente as amostras incubadas com *C. fetus* subsp. *fetus* apresentaram diferenças significativas de efeitos na motilidade e viabilidade espermática. A escassez de trabalhos que avaliem especificamente os efeitos de *C. fetus* subsp. *venerealis* na qualidade e viabilidade do sêmen bovino não nos permite concluir sobre a inexistência de danos aos espermatozoides, o trabalho de Bar et al. (2008) expõe a necessidade de novos estudos, principalmente em bovinos, para que seja possível esclarecer e demonstrar a atuação do touro infectado na patogenia da infertilidade.

O agente é introduzido na fêmea suscetível durante a monta natural com um touro infectado, ou pela inseminação artificial (IA) com sêmen contaminado. A doença pode disseminar-se de vaca para vaca através da utilização de materiais para procedimentos reprodutivos mal higienizados, no entanto, a transmissão venérea é a principal rota de infecção. A taxa de transmissão de touros infectados para fêmeas suscetíveis pode aproximar-se de 100% (Dekeyser, 1986; Pellegrin et al., 1999; Yaeger & Holler, 2007). O principal grupo de risco é composto pelas novilhas e por vacas velhas, nas quais os sintomas da doença são mais acentuados devidos aos baixos níveis de imunidade (Dekeyser, 1984; Jimenez et al., 2011).

A infecção por *C. fetus* subsp. *venerealis* nas fêmeas é caracterizada por infertilidade, endometrite leve, salpingite, cervicite, morte embrionária, repetição de estro e, ocasionalmente, abortos no segundo trimestre de gestação (Hoffer, 1981; Dekeyser, 1984, 1986; Noakes et al., 2001; Yaeger & Holler, 2007; Chiapparrone et al., 2011). Após a exposição a *C. fetus* subsp. *venerealis*, vagina e cérvix são colonizadas e o agente pode sobreviver por longos períodos sem produzir lesões no epitélio vaginal. O micro-organismo não alcançará o útero até o final do período de estro e leva 12 a 14 dias para a infecção atingir útero e ovidutos (Hoffer 1981; Foster & Ladds, 2007; Yaeger & Holler 2007).

Diferente dos touros, as fêmeas infectadas desenvolvem resposta imune que se inicia após a colonização do útero, e na maioria dos animais o agente não sobreviverá à gestação normal (Hoffer, 1981; Noakes et al., 2001; Yaeger & Holler, 2007). Os anticorpos são sintetizados localmente uma vez que não são detectados no soro sanguíneo após a infecção (Hoffer, 1981). Corbeil et al. (1974) descreveram a predominância de IgG nas secreções uterinas e IgA no muco cérvico-vaginal, IgG atua na opsonização e imobilização da bactéria, enquanto IgA apenas o imobiliza. Esses resultados sugerem que as lesões são mais severas no endométrio do que na região cérvico-vaginal e podem explicar a habilidade do micro-organismo permanecer nessa região, em animais convalescentes, tornando-os portadores (Wilkie et al., 1972; Corbeil, 1974; Hoffer, 1981). Em média, a primeira infecção é eliminada em torno de 90 dias e infecções subseqüentes por volta de 20 dias, o que indica uma resposta anamnésica, essa resposta ocorre desde que infecções secundárias ocorram dentro de 15 meses após a primeira (Peter, 1997).

A espécie *C. fetus* apresenta uma camada de proteínas de superfície, conhecidas como SAP (*surface array protein*), ou *S-layer* (*surface layers*), essas proteínas aumentam a virulência da bactéria, conferindo-a resistência a fagocitose e evitando a ativação da via alternativa do complemento ao impedir a ligação do fator C3b à superfície celular, dessa forma estão diretamente relacionadas à função de proteção da célula (Blaser et al., 1987; Yang et al., 1992; Wang et al., 1993; Penn, 2001). Algumas proteínas desempenham um papel crítico na virulência da bactéria, como uma glicoproteína descrita por McCoy et al. (1975) que impede a fagocitose por macrófagos bovinos exceto na presença de anticorpos específicos.

Pei & Blaser (1990) demonstraram a correlação entre a presença das proteínas de superfície e a virulência de cepas de *C. fetus*, afirmaram que as somente as proteínas de superfície não são tóxicas, mas a presença delas na superfície celular, como uma cápsula, aumenta a virulência da bactéria. A variação antigênica que essas proteínas podem sofrer,

tanto *in vitro* quanto *in vivo*, permite ao agente impedir a ação do sistema complemento e de anticorpos, essas propriedades podem ser importantes no estabelecimento de infecções ou colonizações por um longo período de tempo (Wang et al., 1993; Garcia et al., 1995; Vargas et al., 2002).

A infecção não interfere na fertilização e desenvolvimento embrionário inicial (Bielansk et al., 1994; Noakes et al., 2001; Yaeger & Holler, 2007; Catena et al., 2008). Bielansk et al., 1994 e Catena et al., 2008 realizaram estudos sobre fertilização *in vitro* de oócitos bovinos com sêmen contaminado experimentalmente e desenvolvimento *in vitro* de embriões murinos na presença de *C. fetus* subsp. *venerealis*, respectivamente. Os autores concluíram que a contaminação pelo agente da CGB não interferiu na fertilização, clivagem ou taxa de blastocistos (Bielansk et al., 1994) nem no desenvolvimento inicial de embriões murinos (Catena et al., 2008). Esses estudos fornecem indícios de que os efeitos negativos observados na fertilidade das fêmeas sejam por ação da bactéria no ambiente uterino e não diretamente no embrião.

A Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS) categorizou as doenças infecciosas que têm sido estudadas em vista do seu risco de transmissão via embriões obtidos *in vivo*. Apenas uma bactéria do gênero *Campylobacter* (*C. fetus* subsp. *fetus*) foi categorizada com risco para espécie ovina, o agente foi classificado na categoria 3, na qual estão inseridos doenças ou agentes patogênicos para os quais as evidências preliminares indicam que o risco de transmissão é desprezível, desde que o manuseio dos embriões seja realizado de acordo com o manual da IETS (IETS, 2010). Essa classificação demonstra a necessidade de estudos *in vivo* e *in vitro*, tanto para subsidiar as evidências em ovinos, quanto para demonstrar os riscos para espécie bovina em relação à Campilobacteriose.

A colonização uterina pode levar à morte embrionária como resultado da resposta inflamatória no útero e ovidutos, o processo inflamatório uterino pode ser descrito como uma endometrite subaguda mucopurulenta, caracterizado pelo acúmulo de exsudato no lúmen das glândulas uterinas e pela infiltração periglandular de linfócitos. Devido à inflamação, o embrião permanece num ambiente inadequado o que dificulta e impede a fixação e a nutrição do embrião, além disso, o suprimento de oxigênio pode estar comprometido. Portanto na maioria das fêmeas suscetíveis cobertas por touros portadores a fertilização ocorre, porém é sucedida por morte embrionária (Dekeyser, 1996; Noakes et al., 2001; Yaeger & Holler, 2007).

As manifestações clínicas da doença vão depender da dose infectante e da taxa de multiplicação do micro-organismo, ou seja, altas taxas de replicação comumente provocam a

morte do embrião ou feto em 15 a 80 dias após cobertura, replicações mais lentas levam ao aborto geralmente no segundo trimestre de gestação (Peter, 1997; Yaeger & Holler, 2007). Além do processo inflamatório descrito no útero pode ocorrer cervicite, provocando aumento na secreção de muco, que pode se misturar ao exsudato uterino e provocar uma descarga vaginal observável dias após a cópula, entretanto não é tão notável quanto em infecções por *Tritrichomonas foetus* (Noakes et al., 2001). As lesões endometriais em vacas que repetem o estro são leves e consistem, em grande parte dos casos, em infiltração de linfócitos, nódulos, cistos de glândulas, descamação do epitélio superficial e não apresentam alterações vasculares significantes (Hoffer, 1981; Schlafer & Miller, 2007).

O feto e a placenta raramente apresentam lesões que possam ser atribuídas diretamente à CGB, no entanto eles podem ser uma fonte excelente de micro-organismos para cultura (Peter, 1997). A placenta geralmente encontra-se em estado de autólise indicando que a morte fetal ocorre antes da expulsão, as lesões na placenta assemelham-se as encontradas em casos de brucelose, porém são menos graves (Schlafer & Miller, 2007). A região intercotiledonária pode estar edematosa e opaca devido à infiltração celular, histiócitos em sua maioria, os cotilédones afetados encontram-se amarelados, espessados, ásperos e edemaciados. O grau de placentite é bastante variável e pode ser imperceptível (Smith, 1919; Smith et al., 1920; Moynihan & Stovell, 1955;).

As lesões inespecíficas descritas nos fetos são efusões no tecido subcutâneo e cavidades corporais, geralmente manchadas de sangue, depósito de fibrina nas membranas serosas. O conteúdo estomacal viscoso e incolor torna-se turvo, de coloração amarelada, além disso, alterações características como broncopneumonia supurativa, serosite fibrinosa, gastroenterite não supurativa e hepatite são frequentemente observados em exames histopatológicos (Campero et al., 2003; Campero et al., 2005; Yaeger & Holler, 2007; Schlafer & Miller, 2007).

Trabalhos recentes têm direcionado seus esforços para a melhoria do diagnóstico da CGB, poucos estudos buscam elucidar a patogenia ainda pouco conhecida da bactéria *C. fetus* subsp. *venerealis*, tanto na fêmea quanto no macho, diferente do que é observado quanto à TGB.

2.2 Tricomonose Genital Bovina

A Tricomonose Genital Bovina (TGB) causada pelo *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*) foi descrita pela primeira vez em 1888 por Kunstler, na França, no entanto, o crédito pela descoberta do agente é do pesquisador italiano Mazzanti que em 1900 descreveu a tricomonose em duas vacas e uma novilha abatidas devido à infertilidade. Mazzanti fez uma breve descrição do agente e o nomeou de *Trichomonas útero-vaginalis vitulae* (Morgan, 1944a). Os trabalhos de Kunstler e Mazzanti não foram reconhecidos até 1925 por causa da descoberta de Bang, em 1897, de um organismo causador de aborto contagioso (*Bang's disease*, brucelose) o que pode ter limitado a pesquisa de *T. Foetus* (Morgan, 1944a; Rae & Crews, 2006).

Em 1928, Riedmüller publicou os resultados de um estudo em 105 fetos abortados com nove casos de TGB e apenas um de Brucelose, o autor também propôs o nome *Tritrichomonas foetus* para o agente (Morgan, 1944a) que foi amplamente aceito e é empregado atualmente.

Gerlomini relatou os primeiros casos de TGB na Argentina em 1940 (Morgan, 1944a). No Brasil, Roehe (1948) foi o primeiro a relatar a tricomonose, o autor encontrou o parasito no sêmen de reprodutor bovino, doador de sêmen em central de IA no estado do Rio Grande do Sul. Mello (1953, 1954) identificou o parasito em bovinos nos estados do Rio de Janeiro, Ceará, Paraíba, Pernambuco e Bahia. Rabello (1955) registrou a incidência de *Tritrichomonas foetus* em touros, também utilizados como doadores de sêmen em central de IA, no estado de São Paulo. Megale (1963) comunicou pela primeira vez a identificação do protozoário em Minas Gerais. Estudos realizados demonstraram a presença da TGB em diversos estados do Brasil, as frequências relatadas são apresentadas na Tabela 1.2.

2.2.1 Agente

Tritrichomonas foetus é um protozoário parasita com o tamanho aproximado de 20 x 10 µm, de morfologia que varia de piriforme a fusiforme, com um único núcleo e quatro flagelos, incluído no Filo Sarcomastigophora, Ordem Trichomonadida. A extremidade anterior é arredondada e possui três flagelos livres, a posterior geralmente mais afilada e

apresenta um flagelo que acompanha a membrana ondulante (Felleisen, 1999; Pellegrin & Leite, 2003; Rae & Crews 2006; Sager et al., 2007). Às vezes observam-se formas imóveis, arredondadas, provavelmente degenerativas (Urquhart et al., 1998).

Tabela 1.2 – Estudos de frequência de Tricomonose Genital Bovina no período de 1955 a 2009

Ano ^a	Estado	Autores	Método de diagnóstico ^b	Índice (%)
1947	RS	Roehe (1948)	I	Primeiro relato
1953-1954	CE, PB, PE, BA, RJ	Mello (1953/1954)	I	7,3/9
1963	MG	Megale (1963)	I	Primeiro relato em MG
1970	SP	Amaral et al. (1970)	I	8,0
1971	MG	Medeiros & Figueiredo (1971)	I	14,4
1981	PB	Bacalhau (1981)	I	27
1991	RS	Gomes et al. (1991)	I	1,88
1958-2001	RJ	Jesus et al. (2004)	I	29
1997	MG	Leite et al. (1997)	I	5,9
2000-2001	PE	Paz Júnior et al. (2010)	I	0
2009	RJ	Rocha et al. (2009)	I	0

Fonte: Alves et al (2011), modificada.

^a Ano de realização do estudo.

^b I = Isolamento.

Um dos principais mecanismos de nutrição de *T. foetus* é a endocitose. A reprodução de *T. foetus* é assexuada por divisão binária. Em preparações frescas, o organismo é móvel, avançando por meio de movimentos espasmódicos giratórios; os flagelos vibráteis e os movimentos da membrana ondulante são facilmente observados (Urquhart, 1998). Pode sobreviver ao congelamento, mas é sensível ao calor, à luz ultravioleta, aos sabões e desinfetantes (Sousa et al., 1991).

2.2.2 Patogenia

Os estudos apresentados a seguir visaram elucidar a patogenia da TGB, descrever parte dos processos envolvidos na patogênese e determinar o mecanismo de ação do parasito, principalmente no trato reprodutivo da fêmea bovina, com a finalidade de esclarecer as

diferentes formas clínicas apresentadas, assim como estabelecer pontos importantes no tratamento e controle da doença nos rebanhos.

A TGB é uma doença infecciosa sexualmente transmissível, caracterizada por alterações reprodutivas nas fêmeas e infecção assintomática nos machos (Silva et al., 1991). Pode haver em machos o aparecimento de balanopostite transitória ou leve descarga prepucial purulenta durante as duas primeiras semanas da infecção que não evoluem para lesões significativas (Anderson et al., 1994; Schlafer & Miller, 2007).

A transmissão do agente ocorre quando um touro infectado copula com uma fêmea suscetível (vaca ou novilha) ou quando um touro suscetível copula com uma fêmea infectada (Morgan, 1944a; Rae & Crews, 2006). Clark et al. (1977 *apud* Rae & Crews, 2006) demonstraram a transmissão passiva de *T. Foetus*, na qual machos livres da infecção transmitiram o agente para fêmeas igualmente híginas após copularem com fêmeas experimentalmente infectadas, esses resultados sugerem que a utilização de touros jovens e saudáveis em rebanhos infectados não elimina o risco de transmissão da doença, mas pode moderar o efeito dessa transmissão (Rae & Crews, 2006). É possível, também, a transmissão mecânica durante a IA bem como pela utilização de sêmen contaminado, apesar de serem raras (Morgan, 1944a; Morgan, 1948; Pellegrin & Leite, 2003).

Alguns trabalhos afirmaram que a presença de *T. foetus* no ejaculado raramente altera ou não influencia a qualidade do sêmen (Morgan 1948; Rae & Crews, 2006), no entanto, estudos recentes mostraram interação prejudicial entre *T. foetus* e espermatozóides bovinos. Esses estudos descreveram a adesão de espermatozóides pela cabeça e pela cauda ao corpo celular e flagelos do parasito, resultando em aglutinação espermática, além da redução da motilidade progressiva e fagocitose de células espermáticas, o que pode ter influência na patogenia da infertilidade observada em rebanhos infectados com *T. foetus* (Benchimol et al., 2008; Ribeiro et al., 2010). Esses estudos, aliados à possibilidade de transmissão da doença via IA por meio de sêmen contaminado (Morgan, 1944a, 1944b), reforçam a importância do controle sanitário dos animais nas centrais de coleta e processamento de sêmen, apesar da ausência de dados recentes, no Brasil já foram detectados animais positivos em centrais (Roehle, 1948; Rabelo, 1955; Gomes et al., 1991).

Tritrichomonas foetus não é invasivo no touro, a infecção fica confinada a cavidade prepucial e eventualmente ao orifício uretral. Raramente é demonstrada a presença de *T. foetus* em cortes histológicos do prepúcio, ou seja, microscopicamente, o parasito não invade o epitélio prepucial (Pellegrin & Leite, 2003; Rae & Crews, 2006; Schlafer & Miller, 2007). A característica mais importante da infecção em touros é o desenvolvimento do estado de

portador assintomático (Morgan, 1944a; Rae & Crews, 2006), os touros mais velhos têm maior risco de adquirirem a doença e manterem-se portadores assintomáticos, uma vez que com o avanço da idade aumenta a profundidade das criptas prepúciais o que pode proporcionar um ambiente de microaerofilia favorável à manutenção da infecção crônica (Rae & Crews, 2006). Segundo Rae et al. (2004), touros com idade superior a cinco anos são duas vezes mais suscetíveis a resultados positivos de cultivo para *T. foetus* do que animais mais jovens.

Estudos demonstraram que determinadas raças parecem ser mais suscetíveis à infecção por *T. foetus* que outras, alguns pesquisadores observaram diferenças significativas de infecção entre touros *Bos taurus taurus* e touros *Bos taurus indicus* (Rae et al., 2004; Jesus et al., 2004). Rae et al. (2004) observaram que touros *Bos taurus taurus* são seis vezes mais suscetíveis à resultados positivos de cultivo do que touros *Bos taurus indicus*, no entanto não há significância biológica que possa ser atribuída à essas observações devido as ausências de uma distribuição equitativa de raças nos rebanhos estudados e de informações sobre a origem dos touros (Rae et al., 2004; Rae & Crews, 2006). A maior suscetibilidade de touros *B. taurus taurus* está possivelmente relacionada à conformação anatômica do prepúcio dos touros (Rae et al., 1999 *apud* Jesus et al., 2004).

Segundo Pellegrin & Leite (2003), a taxa de difusão de *T. foetus* é dependente mais do número de intercâmbios sexuais por animal do que a densidade de animais infectados no rebanho. Assim, apenas um touro infectado cobrindo o maior número de fêmeas em um rebanho pode difundir a doença mais facilmente.

A infecção por *T. foetus* em fêmeas causa endometrite, cervicite, vaginite, piometra, morte embrionária, repetição de estro e aborto (Morgan, 1944a; Rhyan et al., 1988; Corbeil et al., 2001; Rae & Crews, 2006; Cobo et al., 2010) após o coito os parasitos inicialmente aderem-se e infectam as células epiteliais da vagina e podem causar uma vaginite moderada que pode passar despercebida e posteriormente, durante o estro, migram para o útero via cérvix, e infectam células epiteliais do órgão e posteriormente a placenta. A colonização de todo o trato reprodutivo ocorre no período de uma a duas semanas (Morgan, 1944a; Rae & Crews, 2006; Schlafer & Miller, 2007; Lucas et al., 2008). Vacas e novilhas que nunca tiveram contato com o agente podem infectar-se com 100 a 200 células móveis na região anterior da vagina (Corbeil et al., 2001).

A infecção pode interferir na fertilização e desenvolvimento do embrião levando a perda embrionária ou morte fetal, apesar da infecção a gestação frequentemente é estabelecida, porém muitas dessas não prosseguem e resultam em perdas, o que ocorre mais

comumente no primeiro trimestre da gestação, mas pode ocorrer em idades mais avançadas, como no terço final da gestação (Rhyan et al., 1988; BonDurant, 1999; Corbeil et al., 2001). A morte embrionária ou fetal durante os estágios iniciais de gestação resulta em repetição de estro a intervalos prolongados (Rae & Crews, 2006; Schlafer & Miller, 2007), uma das características mais comuns, porém não patognomônica da doença.

A imunidade na fêmea é baseada na produção de IgA e IgG durante e após a infecção (Pellegrin & Leite, 2003) e a eliminação da infecção por *T. foetus* pela fêmea é variável. Em novilhas a infecção tem duração de 95 dias a 22 meses (Rae & Crews, 2006). Skirrow & BonDurant (1990, *apud* Rae & Crews, 2006) detectaram organismos no trato reprodutivo de novilhas por 13 a 28 semanas após infecção experimental. A existência de infecção permanente de fêmeas foi descrita por Skirrow (1987, *apud* Mancebo et al., 1995), no entanto a condição de fêmea portadora já era discutida por Morgan (1944a, 1944b, 1948). Essa persistência é definida como qualquer fêmea que mantenha a infecção durante a gestação até a estação reprodutiva seguinte (Rae & Crews, 2006). Rhyan et al. (1988) afirmaram que seus achados em fetos abortados no terço final de gestação corroboram com a ocorrência de vacas portadoras, observadas em outros estudos (Morgan, 1944b). Mancebo et al. (1995) relataram a identificação de fêmeas positivas cerca de 300 dias após a estação de monta. Portanto, assim como os touros, essas fêmeas identificadas como portadoras, atuam como fonte de infecção no rebanho, porém a ocorrência de fêmeas nessas condições é infrequente (< 1%; Rae & Crews, 2006; Sager et al., 2007).

Rhyan et al. (1988) relataram alterações patológicas em fetos abortados com idade gestacional de dois a nove meses e demonstraram um padrão consistente de lesões fetais e placentárias atribuídas a *T. foetus*. Todas as placentas examinadas apresentaram invasão focal ou difusa do estroma coriônico pelo parasito e em algumas havia a presença moderada de infiltrado inflamatório, predominantemente de células mononucleares. Dos 11 fetos examinados, seis apresentaram broncopneumonia com a identificação do agente nas vias aéreas, em dois casos foi identificada pneumonia intersticial. *Tritrichomonas foetus* foi identificado em cortes histológicos do esôfago, abomaso e intestino. Um feto apresentou degeneração centrolobular de hepatócitos, provavelmente devido à hipóxia. A hipotrofia placentária, placentite necrótica e a colonização subsequente dos tecidos fetais podem assim resultar em aborto (Felleisen, 1999).

O mecanismo exato que leva à morte do concepto não é conhecido (Rae & Crews, 2006). Para o entendimento da patogênese da TGB é crucial a determinação dos mecanismos de dano aos tecidos e células do hospedeiro (Burgess et al., 1990). Pelas características

clínicas mais evidentes na infecção em fêmeas, as pesquisas são focadas predominantemente nessa categoria (Felleisen, 1999). Foram descritos efeitos citotóxicos e hemolíticos sobre células de mamíferos (Burgess et al., 1990), assim como a aderência a eritrócitos (Silva et al., 1999). Burgess & McDonald (1992) descreveram uma adesina de superfície (190 kDa) que desempenha um papel importante na aderência de *T. foetus* à células de mamíferos, além disso, demonstraram que essa aderência é um importante passo no processo de citotoxicidade às células-alvo. Silva et al. (1999) identificaram outra adesina de superfície (100 kDa) que parece desempenhar uma atividade na aderência do parasito aos eritrócitos.

A identificação de diferentes moléculas de aderência e receptores de matriz extracelular tem mostrado o papel crucial desses fatores no estabelecimento do contato físico entre *T. foetus* e células do hospedeiro, fatores solúveis e ligados à superfície do parasito caracterizam o que provavelmente está envolvido na destruição do epitélio hospedeiro. A caracterização molecular dessas proteínas-chave de patogenicidade fornece uma base para terapêutica ou estratégias de imunização (Felleisen, 1999). Lucas et al. (2008) caracterizaram a CP8, uma protease de cisteína que induz citotoxicidade e apoptose em células vaginas e uterinas bovinas.

Aydintug et al. (1990) conduziram um estudo sobre as interações entre *T. foetus* e os mecanismos de defesa no trato reprodutivo bovino a fim de determinar o papel das vias clássica e alternativa de ativação do sistema complemento na morte do parasito, com bases nos resultados eles concluíram que um anticorpo específico e o sistema complemento são capazes de promover proteção contra a infecção por *T. foetus* no trato reprodutivo bovino. Aydintug et al. (1993) também avaliaram a função do neutrófilo bovino na eliminação da infecção e mostraram que apenas o neutrófilo é pouco efetivo na eliminação do agente, no entanto quando o agente foi previamente opsonizado com anticorpo e o complemento a atuação do neutrófilo na eliminação de *T. foetus* foi elevada.

Rutkowski & Harmsen (2007) avaliaram a patogenia de *T. foetus* no trato reprodutivo de camundongos fêmeas e concluíram que a citotoxicidade e a patogênese do parasito foram ampliadas no grupo tratado com estradiol e no grupo sob estresse, em contrapartida, a infecção no grupo controle foi caracterizada por colonização crônica do trato reprodutivo com pouca inflamação. Esses resultados relacionam a colonização do trato reprodutivo com fatores que diminuem a resistência imunológica do hospedeiro, demonstrando dessa forma a atuação do sistema imune na infecção por *T. foetus*.

Bielansk et al. (2004) avaliaram os efeitos de *T. foetus* na fertilização e no desenvolvimento embrionário inicial, além da transmissão do agente para embriões bovinos

em sistema de cultivo *in vitro* contaminados. Os autores observaram aderência do parasito à zona pelúcida (ZP) e às microvilosidades de células trofoblásticas de embriões eclodidos, contudo, não foi observada a penetração da ZP. Os autores concluíram que *T. foetus* não interferiu na fertilização *in vitro* (FIV), tampouco no desenvolvimento embrionário, acrescentaram, ainda, que e o potencial risco de transmissão da TGB por embriões de FIV é improvável devido à sobrevivência limitada do parasito (18 a 72 horas) nas condições de fertilização e cultivo *in vitro*.

Diferente dos resultados obtidos no experimento anterior, Benchimol et al. (2007) avaliaram o comportamento de *T. foetus* na presença de oócitos bovinos com e sem as células do complexo cumulus-oócito (CCO) e relataram os danos provocados pelo parasita à célula reprodutiva. Foi observada a aderência do parasito às células do CCO provocando desnudamento e danos compatíveis com apoptose, além disso, foram relatados deslocamento e injúrias severas à ZP que permitiram a penetração do agente e o desenvolvimento de danos ao oócito que apresentou retração e sinais evidentes de lesão celular. Os autores avaliaram apenas a interação do parasito com o oócito, não avaliaram a influência na FIV e no desenvolvimento embrionário. Apesar dos resultados aparentemente contrastantes, é importante observar a diferença dos objetivos e da metodologia nos estudos citados, Bielansk et al. (2004) utilizaram meios específicos para fertilização e cultivo sem suplementação, enquanto Benchimol et al. (2007) adicionaram uma parte de meio de Diamond. A suplementação do meio pode ter influenciado nos resultados observados.

Sabe-se que *T. foetus* adere à ZP e provoca danos à oócitos bovinos (Bielansk et al., 2004; Benchimol et al., 2007) e segundo categorização das doenças infecciosas com vistas ao risco de sua transmissão pela Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS), a TGB encontra-se na categoria 4 que são doenças ou agentes sobre os quais ainda não foram possíveis conclusões sobre o risco de transmissão ou o risco de transmissão não pode ser desprezado, mesmo se os embriões forem manuseados apropriadamente de acordo com o manual da IETS (IETS, 2010).

2.3 Diagnóstico da Campilobacteriose e Tricomonose Genitais Bovina

Tricomonose e Campilobacteriose raramente são suspeitas em casos nos quais apenas um indivíduo exibe os sinais clássicos de infecção, tais como infertilidade ou aborto precoce.

Contudo, levando-se em consideração a natureza das doenças venéreas, se um indivíduo está infectado, todo o rebanho está infectado em algum grau. Por isso, Peter (1997) afirmou que um diagnóstico com base no rebanho, apoiado pelo histórico e isolamento ou identificação do agente causador seria uma abordagem lógica do problema.

A primeira indicação da presença de doenças venéreas em um rebanho é dada pelo desempenho reprodutivo de machos e fêmeas (Sousa et al., 1991), o intervalo parto-concepção, ou intervalo de partos prolongados são boas indicações de problemas reprodutivos (BonDurant, 2005; Rae & Crews, 2006), a taxa de gestação de um rebanho infectado pode estar inicialmente normal para o rebanho, mas diminui entre 70 e 120 dias de gestação (Cobo et al., 2004). Em rebanhos suscetíveis, a infertilidade é resultado da morte embrionária precoce e é caracterizada por falhas na concepção após serviços frequentes, elevados índices de retorno ao estro em intervalos irregulares (50 a 100 dias), abortos até o segundo trimestre de gestação podem ocorrer, porém ocorrem em menos de 10% dos casos (Noakes et al., 2001; Pellegrin & Leite, 2003; BonDurant, 2005; Yaeger & Holler, 2007). Apesar disso, essas evidências não são características exclusivas da CGB e da TGB, outros agentes infecciosos (*Leptospira* spp, *Ureaplasma* spp) e diferentes condições nutricionais e ambientais podem levar aos mesmos sinais (BonDurant, 2005; Rae & Crews, 2006).

O diagnóstico da CGB e da TGB é um desafio para a pecuária bovina, as doenças podem não ser detectadas devido sua natureza insidiosa (Rae & Crews, 2006). Uma vez que as características da doença e os sinais clínicos mais comuns (touro portadores assintomáticos, sinais ocasionais de infertilidade em fêmeas, repetição de estro e eventuais gestações com o aumento do intervalo de partos) não são patognomônicos, dessa forma nenhum dos sinais clínicos descritos na literatura pode ser interpretado como diagnóstico da doença (Morgan, 1944a; Rae & Crews, 2006). Ao exame clínico há poucos achados anormais, logo é necessário lançar mão do diagnóstico laboratorial (Pellegrin & Leite, 2003; BonDurant, 2005), e quando o histórico sugere alguma doença de transmissão venérea, devem ser coletadas amostras para o diagnóstico das duas doenças (BonDurant, 2005). Segundo Sager et al. (2007), A TGB e a CGB são tão similares que na suspeita de uma doença, a ausência do agente da outra enfermidade deve ser confirmada, assim como outras causas de falhas reprodutivas tais como baixa fertilidade do touro e nutrição inadequada.

2.3.1 *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*

Diversos métodos diagnósticos para CGB foram descritos desde os estudos iniciais da doença, as técnicas disponíveis e mais utilizadas atualmente são: Isolamento e identificação da bactéria por cultivo (Smith, 1918; OIE, 2011b), imunofluorescência direta (IFD. Leite, 1977) e PCR (Eaglesome et al., 1995; Stynen, 2000). As amostras para diagnósticos podem ser coletadas em touros (esmegma prepucial e sêmen), vacas (muco cérvico-vaginal) além da placenta e do feto abortado (conteúdo estomacal, fígado e pulmões. Hoffer, 1981; Noakes et al., 2001; OIE, 2011b).

Em um estudo para determinar quais as metodologias utilizadas na detecção e identificação de *C. fetus* subsp. *venerealis*, van Bergen et al. (2005) enviaram questionários aos países membros da OIE e relataram que o cultivo e isolamento da bactéria é o método mais utilizado e nenhum país utiliza somente a IFD como método diagnóstico, no entanto, um terço dos países respondentes utilizam a IFD combinada com isolamento. Outros testes, como o de aglutinação do muco cérvico-vaginal e ELISA são utilizados por 35% e 12% dos países, respectivamente. Os métodos de cultivo, isolamento e identificação por IFD foram os mais utilizados nos trabalhos brasileiros mais recentes (Modolo et al., 2000; Pellegrin et al., 2002; Stynen et al., 2003; Miranda, 2005; Rocha et al., 2009; Beterro et al., 2009; Leal et al., 2011), por isso serão abordados com maior profundidade.

Cultivo

O isolamento e identificação do micro-organismo por meio do cultivo é o teste prescrito pela OIE para comércio internacional de animais e sêmen (OIE, 2009). Porém, o isolamento a partir do cultivo é complicado devido à reduzida viabilidade de *C. fetus* subsp. *venerealis* sob condições atmosféricas normais e o crescimento rápido de organismos contaminantes (Fletcher, 1964; Monke et al., 2002). As amostras coletadas tanto em touros quanto em vacas são contaminadas com um grande número de outros organismos e o meio escolhido para cultivo deve ser eficiente em inibir o crescimento desses possíveis contaminantes e dar suporte ao crescimento de *C. fetus* subsp. *venerealis* (Dekeyser, 1986). O método de isolamento requer um transporte rápido do material para o laboratório e não

demonstra ser adequado para regiões distantes do laboratório de diagnóstico, pois pode haver grande proliferação de contaminantes (Pellegrin et al., 2003a).

O transporte das amostras até o laboratório é um ponto crucial no diagnóstico por cultivo, pois quanto maior o tempo entre a coleta e a início do cultivo, menores são as possibilidades de sucesso no diagnóstico. Por isso a utilização de meios de transportes para manter ou aumentar a viabilidade da bactéria e impedir o crescimento de contaminantes é importante na redução dos efeitos negativos da coleta e transporte sobre a amostra (Hoffer et al., 1981; Dekeyser, 1986; Peter, 1997; Monke et al., 2002). Monke et al. (2002) realizaram um estudo para identificar a melhor combinação entre meio de transporte, meio de cultivo, tempo de chegada da amostra ao laboratório, tempo para início da incubação das amostras de esmegma prepucial e obtiveram os melhores resultados quando as amostras chegaram ao laboratório em quatro horas após a inoculação no meio de transporte Weybridge e foram transferidos para o Agar Skirrow no mesmo dia da chegada ao laboratório. Pellegrin et al., (2003b) recomendaram o envio do material para cultura no período máximo de seis horas e caso não seja possível o material pode ser inoculado em meio de transporte e mantido a temperatura ambiente por no máximo dois dias até o processamento, cuidados essenciais para a tentativa de isolamento confiável.

Dentre os diversos meios de cultivo utilizados para *C. fetus* subsp. *venerealis*, a OIE (2011b) recomenda o uso do meio Skirrow, que é um meio a base de sangue hemolisado (5-7%) acrescido de agentes seletivos (antibióticos). Agar sangue BHI (*brain heart infusion*) ou agar sangue Mueller-Hinton podem ser utilizados (Peter, 1997). As placas inoculadas com as amostras devem ser incubadas a 37 °C em ambiente de microaerofilia, com 5 a 10% de oxigênio, 5 a 10% de dióxido de carbono, por um período de 5 a 7 dias. Após o período de crescimento a bactéria é identificada pelas características da colônia, morfologia do agente, uma série de testes bioquímicos e suscetibilidade a antibióticos. (Quinn et al., 2001; OIE, 2011b).

Os procedimentos para cultivo e isolamento do agente da CGB requerem o uso de condições atmosféricas especiais, meio de transporte, meio de cultivo enriquecido e seletivo, o que é laborioso, consome tempo e pode ser relativamente caro (Brooks et al., 2004), essas exigências são devidas às características de crescimento fastidioso da bactéria, à reduzida viabilidade do agente nas amostras, ao tempo de transporte prolongado e ao crescimento de contaminantes (Moolhuijzen et al., 2009; Joens et al., 2010; Stynen et al., 2011), por isso só são utilizadas por poucos laboratórios (Miranda, 2005).

Imunofluorescencia direta (IFD)

A IFD utilizada pela primeira vez em 1963 apresenta alta sensibilidade para touros, porém apresenta resultados contraditórios quando utilizados em muco cérvico-vaginal (Leite, 1977). Quando comparado com o cultivo e isolamento, a IFD é realizada em curto espaço de tempo e a presença de contaminantes não é um problema relevante, além disso, as condições de coleta e tempo de transporte não precisam ser tão rígidas quanto às exigidas para o cultivo (Figueiredo et al., 2002; Pellegrin, 2002).

O exame não consegue distinguir as duas subespécies de *C. fetus*, porém pode distinguir de outras espécies de *Campylobacter* (Hoffer, 1981; Noakes et al., 2001; Figueiredo et al., 2002). A IFD apresenta boa sensibilidade e especificidade, é capaz de detectar *C. fetus* em baixas concentrações no lavado prepucial (Figueiredo et al., 2002), apesar disso, é de extrema importância que os exames sejam realizados por técnicos treinados e experientes na interpretação dos resultados para que o desempenho do teste não seja prejudicado pela subjetividade (Figueiredo et al., 2002; Pellegrin, 2002).

Dessa forma, a técnica da IFD tem se mostrado como a técnica de maior aplicabilidade dentre as disponíveis, pois é uma técnica simples e econômica (Leite, 1977), além de ser recomendada pela OIE (2008a).

Outros testes laboratoriais

Outros testes diagnósticos descritos são: soro aglutinação, aglutinação do muco cérvico-vaginal, ELISA e PCR (Hoffer, 1981; Pellegrin, 2002; OIE, 2008a). A soro aglutinação não é um teste confiável, uma vez que a doença não é sistêmica e anticorpos contra *C. fetus* subsp. *venerealis* raramente são encontrados na corrente sanguínea (Hoffer, 1981), já a aglutinação do muco-cérvico vaginal foi muito utilizada como diagnóstico de rebanho, porém não é capaz de detectar animais portadores, além de ter baixa sensibilidade e especificidade e poder apresentar resultados falso negativos e falsos positivos (Hoffer, 1981; Pellegrin, 2002).

Os testes de ELISA para detecção de imunoglobulinas específicas contra *C. fetus* subsp. *venerealis* no muco cérvico-vaginal e PCR utilizado principalmente na detecção do

agente em lavados prepucciais foram desenvolvidos ou aprimorados a partir da década de 90, (Bastyns et al., 1995; On & Harrington, 2001; Brooks et al., 2002; McFadden et al., 2003; Vargas et al., 2003; Schulze et al., 2006; Groff et al., 2010), no entanto ainda não são empregados na rotina, em grande parte devido aos custos envolvidos nos procedimentos, mas também a falta de padronização e as diferenças de metodologias e resultados contribuem para essa pouca utilização, embora sejam técnicas com grande potencial para substituir os métodos clássicos (van Bergen et al., 2005; Groff et al., 2010).

2.3.2 *Tritrichomonas foetus*

O diagnóstico positivo de *T. foetus* é feito pela observação do organismo vivo, móvel, nas secreções genitais de animais infectados (esmegma, muco cérvico-vaginal), sêmen ou em tecidos e fluidos de fetos abortados (Morgan, 1944a; Gomes et al., 1991; Rae & Crews, 2006). Essa observação é realizada ao exame microscópico com ou sem o cultivo *in vitro*, o diagnóstico é baseado na observação, isolamento e identificação do agente. Tentativas de desenvolvimento de testes sorológicos não foram bem sucedidas ou tinham sua aplicação limitada (BonDurant et al., 1996). O método diagnóstico recomendado pela OIE é o exame direto ou o exame do cultivo de amostras (OIE, 2008b). Com o avanço dos métodos de diagnóstico baseados em biologia molecular é possível a detecção de seqüências específicas de DNA pela reação em cadeia da polimerase (PCR. Ho et al., 1994; Felleisein et al., 1998).

Exame microscópico

O exame microscópico de suspensões de secreção prepucial e esmegma de touros, muco cérvico-vaginal e conteúdo uterino de fêmeas, foi o primeiro método de rotina usado no diagnóstico da TGB (Morgan, 1944a; Rae & Crews, 2006). A montagem da lâmina para exame é feita com a colocação de uma gota das amostras citadas acima em lâminas para microscopia, a gota pode ser diluída em solução fisiológica para melhorar a visibilidade, o uso de lamínula reduz a profundidade do campo e auxilia a visualização da amostra. A amostra é examinada e procura-se a presença de *T. foetus* no aumento de 100x, ele pode ser diferenciado

de outros micro-organismos devido ao tamanho, formato e a presença de núcleo, além de apresentar um movimento irregular característico em espiral (*jerky movement*; Morgan, 1944a). Acrescido a observação dos movimentos característicos, o diagnóstico é feito pelas características morfológicas do parasito, essa análise é realizada sob aumento de 400x, no qual é possível a visualização dos três flagelos anteriores, um flagelo posterior e a movimentação da membrana ondulante.

Outros protozoários semelhantes a *T. foetus* podem ser encontrados como contaminantes do trato reprodutivo de bovinos, essa contaminação provavelmente é resultado da falta de cuidados com a limpeza no momento da coleta. As amostras podem ser contaminadas com protozoários intestinais, coprofílicos, ou de vida livre encontrados no solo e na água (Taylor et al, 1994; Felleisen, 1998; Rae & Crews, 2006). Alguns desses protozoários podem exibir características morfológicas similares a *T. foetus*, Dufernez et al. (2007) examinaram 12 amostras com outros protozoários isoladas de touros e observaram que esses protozoários apresentavam quatro ou cinco flagelos anteriores, os autores identificaram os agentes como *Tetratrichomonas* sp., *Pentatrichomonas hominis* e *Pseudotrichomonas* sp., baseados com as características morfológicas. Por esses motivos, confiar no diagnóstico apenas a partir das características de movimentação, sem visualização direta das características morfológicas podem resultar em erros de diagnóstico (Taylor et al., 1994).

O exame microscópico direto é menos sensível do que o uso de cultivo *in vitro* (Felleisen et al., 1998; Pellegrin & Leite, 2003). Segundo Morgan (1944a) é possível observar o agente ao exame direto se houver uma infecção com grande número de espécimes e de acordo com Rae & Crews (2006), as coletas em machos e fêmeas fornecem uma amostra pequena que pode apresentar um número muito baixo de organismos e esse fator poderia resultar em erros de diagnóstico. Logo, caso o exame direto seja utilizado e apresente resultado negativo, é necessário inocular as amostras em meios de cultivo e realizar o exame após os períodos de incubação específicos (Morgan, 1944a). O exame direto tem sensibilidade de 30% (Pellegrin & Leite, 2003), enquanto o cultivo apresenta sensibilidade de 87 a 97%. Sensibilidades acima de 90% são obtidas sob condições experimentais (Parker et al., 2003a, 2003b) e sensibilidades de 70 a 90% são mais representativas para as amostras coletadas e processadas sob condições geralmente obtidas a campo (Peter et al., 1995; Mukhufhi et al., 2003; Perez et al., 2006). Outra possível explicação para a baixa sensibilidade do exame direto, além do baixo número de espécimes obtido na coleta, são as condições ambientais e estruturais comuns aos sistemas de produção, os quais não fornecem ambientes físicos e tempo para realização adequada do exame direto no momento da coleta (Rae & Crews, 2006).

Cultivo

Desde a descoberta do agente (*T. foetus*), pesquisadores buscaram desenvolver o meio de cultura mais adequado para o crescimento do organismo, para três fins: desenvolver e melhorar um método diagnóstico; conduzir experimentos; e por último, estudar a fisiologia do protozoário, que inclui nutrição, respiração e outras atividades metabólicas (Morgan, 1944a). A maior parte dos meios indefinidos para transporte de *T. foetus* surgiram durante a década de 30 e apesar da eficiência de alguns meios, a maioria exige uma metodologia complexa no seu preparo. Já o transporte de amostras em meios de composição fixa, reduziu as diferenças atribuídas à qualidade das substâncias envolvidas e padronizou a composição de cada meio (Silva et al., 1991).

As primeiras tentativas em cultivar e manter *T. foetus* fora do hospedeiro, foram em líquidos orgânicos, nos quais haviam sido encontrados. Witte (1933), segundo Morgan (1944a), foi o primeiro a isolar e cultivar o parasito livre de bactérias, após tentar cultivos, sem sucesso, em líquido ruminal, leite e secreção de piometra autoclavada.

Um dos meios mais empregados é o desenvolvido por Diamond em 1983 (Silva et al., 1991), outros meios como o Lactopep ou o Rieck podem ser utilizados, embora não sejam tão seletivos para *T. foetus* quanto o primeiro, o meio de Diamond têm no seu fácil preparo sua vantagem (Pellegrin & Leite, 2003). Nos Estados Unidos, desde a metade da década de 40 ao final da década de 80 a maioria das amostras eram cultivadas em meio de Diamond (Rae & Crews, 2006), no início da década de 90 foi lançado um meio de cultivo comercializado em uma bolsa plástica (*InPouch™ TF*, - *Biomed Diagnostics, Inc.*), o material coletado é introduzido na bolsa e incubado, o exame microscópico é realizado diretamente na bolsa (Pellegrin & Leite, 2003; Rae & Crews, 2006). Meio de Diamond modificado e o kit comercial foram comparados e os resultados mostraram-se similares para os dois testes (Bryan et al., 1999; Lun et al., 2000; Parker et al., 2003a) Algumas das vantagens do kit comercial estão na facilidade de manuseio e na ausência da necessidade de produção de meios, além da facilidade de manuseio à campo (Parker et al., 2003a).

A sensibilidade do cultivo de amostras coletadas de touros pode alcançar mais de 90% (Parker et al., 2003a, 2003b) enquanto as amostras coletadas de fêmeas apresentam sensibilidade de 58 a 75%, nas melhores condições (Skirrow & BonDurant, 1988 *apud* BonDurant et al., 1996). Provavelmente devido à característica da infecção e da resposta inflamatória na fêmea, que pode interferir no número de espécimes coletados. A evidenciação

de *T. foetus* no trato genital feminino do animal infectado, nem sempre é possível, independente do método de coleta (Sousa et al., 1991).

As amostras em cultivo devem ser mantidas a 37 °C durante todo o período de avaliação, as análises iniciam-se de 24 a 48 horas após a chegada do material no laboratório e são lidas pelo menos a cada 24-48 horas durante sete dias (Peter et al., 1995; Lun et al., 2000; Pellegrin & Leite, 2003; Rae & Crews, 2006). A leitura das amostras é feita da mesma forma descrita anteriormente para o exame direto.

O tempo decorrido entre a coleta da amostra o processamento no laboratório, temperatura, tipo do isolado (esmegma, muco cérvico-vaginal, líquidos placentários, entre outros) e o meio de cultivo têm efeito sobre a sensibilidade do cultivo *in vitro* de *T. foetus*. É recomendado que as amostras sejam inoculadas imediatamente após a coleta no meio de cultivo (Diamond ou Kit comercial), transportadas o mais rápido possível ao laboratório e mantidas a temperatura entre 22 e 37 °C, a fim de se alcançar uma boa sensibilidade diagnóstica (BonDurant, 2005; Rae & Crews, 2006).

2.3.3 Coleta das amostras

A coleta de amostras é um aspecto primordial para o correto diagnóstico da CGB e da TGB, a sua sensibilidade está diretamente relacionada ao método, à frequência de coleta e, principalmente, ao acondicionamento e transporte do material (Pellegrin, 2002; Pellegrin et al., 2003b). A coleta de amostras, o transporte, o método de diagnóstico escolhido e a frequência de coletas são pontos chaves e devem ser realizadas seguindo procedimentos padrões para garantir uma sensibilidade adequada da técnica (Sager et al., 2007) e reduzir a probabilidade de resultados falsos negativos.

Para a coleta de amostras em touros são descritos na literatura três metodologias que podem diferir quanto ao material utilizado, são elas: “swab” prepucial, lavado prepucial e escarificação/aspiração com pipeta. Essas técnicas são usadas de acordo com a preferência de cada grupo de pesquisa, segundo Rae & Crews (2006), os métodos de coleta por lavado prepucial são mais utilizados na Europa, enquanto nos Estados Unidos as técnicas de coleta a seco (escarificação/aspiração) são os mais utilizados, assim como na Argentina (Perez et al., 2006; Neves et al., 2011). Para a realização das coletas os touros devem ser contidos de maneira adequada, os pelos prepuciais aparados e a região externa da ponta do prepúcio

lavada com água (Morgan, 1944a; Sager et al., 2007). Além disso, o repouso sexual por um período de 5 a 15 dias antes da coleta permite o aumento do número de micro-organismos no ambiente prepucial e a realização de duas a três coletas em intervalos de 7 a 15 dias permitem o aumento da sensibilidade do diagnóstico (Noakes et al., 2001; Pellegrin et al., 2003b; OIE, 2011c). A técnica do “swab” foi descrita por Morgan (1944a), no entanto é mais efetiva para o diagnóstico de *Leptospira* sp., raramente usada em coleta de amostras para diagnóstico de *T. foetus* (Rae & Crews, 2006).

Para coleta por escarificação/aspiração é necessária a utilização de uma pipeta de IA bovina acoplada a uma seringa ou a um bulbo (pera) de borracha. Fernandes et al. (1979) utilizaram um bulbo para enema conectado à pipeta por um tubo de borracha flexível. A pipeta é inserida no óstio prepucial até o final no prepúcio, na região do fórnix (bainha), então são realizados movimentos vigorosos com a pipeta alternando com aspirações (Rae & Crews, 2006). A metodologia descrita por Parker et al. (2003a) relataram a introdução da pipeta até a metade do prepúcio, então uma seringa de 20 mL é acoplada e são feitos movimentos Antero-posteriores enquanto 15 mL de sucção são aplicados com a seringa. O material coletado na pipeta deve ser suspenso em tubos contendo Lactato de Ringer, PBS (pH 7,4), solução salina (pH 7,4) ou em meio seletivo escolhido para o isolamento (Pellegrin & Leite 2003), as pipetas podem ainda ser seladas por calor e enviadas, sob refrigeração, o mais rápido possível ao laboratório (Gomes et al., 1991; Pellegrin et al., 2003b).

Andrews & Miller (1938, *apud* Morgan, 1944a) introduziram solução salina estéril adicionada de uma pequena parte de sangue de coelho desfibrinado e recolheram o máximo de líquido possível com massagens no prepúcio. Felleisen et al., (1998) realizam a lavagem por meio de enxágues seriados com 50 mL de solução fisiológica estéril pré-aquecida (30 – 37 °C), o líquido foi introduzido com o auxílio de um cateter de 20 cm acoplado à um bulbo de borracha. Leite et al. (1995) desenvolveram uma técnica modificada para coleta de lavado prepucial, a coleta é realizada por um sistema composto de um equipo introduzido no prepúcio, ligado por uma agulha à um frasco tipo penicilina contendo solução salina ou PBS (pH 7,4), o frasco é elevado acima da linha do prepúcio e com a introdução de outra agulha que funciona como suspiro o líquido preenche o prepúcio, após massagens vigorosas o frasco é colocado abaixo da linha do prepúcio e o lavado é recolhido. O material recolhido no lavado pode ser adicionado ao meio de cultivo com ou sem centrifugação prévia (Felleisen et al. 1998; Mukhufhi et al., 2003).

A coleta por escarificação/aspiração é o mais traumático dos métodos, as amostras frequentemente contém sangue e outros produtos oriundos do dano ao tecido epitelial, além

do esmegma recolhido ser mais espesso, mucoide (Mukhufhi et al., 2003). De acordo com Rae et al. (2004), a coleta é considerada adequada quando a amostra apresenta-se levemente tingida de sangue e a pipeta é preenchida com esmegma em pelo menos um terço de seu comprimento, essa orientação demonstra o quanto esse procedimento pode ser traumático. Schönmann et al. (1994) não encontraram diferenças quanto à sensibilidade de detecção no cultivo de amostras coletadas por escarificação/aspiração ou por lavado prepucial e Mukhufhi et al. (2003) também não encontraram diferenças entre os métodos de coleta no diagnóstico da TGB por PCR. A escolha do método de coleta deve levar em consideração a experiência do veterinário que irá coletar as amostras e do laboratório que irá processar o material, além da disponibilidade de material necessário para cada método.

Segundo Morgan (1944a), as primeiras coletas de amostras em fêmeas foram feitas com pipetas de vidro acopladas em bulbos de borracha, outro método descrito pelo autor é o uso do “swab” conectado a aplicadores ou pinças. Mancebo et al., (1995) utilizaram uma “haste com cabeça de parafuso” que promove escarificação da mucosa, utilizada previamente, segundo o autor, por Ostrowski et al. (1974) em touros. A coleta com pipeta de IA acoplada à seringa ou pera de borracha talvez seja a mais utilizada para coleta de muco cérvico-vaginal (Mancebo et al. 1995; BonDurant et al., 1996; Felleisen et al 1998; Pellegrin et al., 2003b; Stockdale et al., 2007). Poucos autores citaram que a conexão entre a pipeta e a seringa pode ser feita por meio de um adaptador flexível (tubo de borracha), além de facilitar a conexão, permite melhor manuseio durante a arpiração (Stockdale et al., 2007).

Fernandes et al. (1975 *apud* Sousa et al., 1991) desenvolveram uma técnica de coleta de amostras em fêmeas com a utilização de um absorvente interno (o.b.[®] - *Jonhson & Jonhson*[®]). O absorvente fixo há um barbante de 40 a 50 cm de comprimento é colocado na vagina com o auxílio de um espéculo esterilizado, semelhante à colocação de pessários vaginais com progesterona, 10 a 20 cm do barbante é deixado livre e externamente aos lábios vulvares, após 20 minutos de contato o absorvente impregnado com muco cérvico-vaginal é retirado, o barbante é cortado e um fragmento do absorvente é colocado em meio de cultivo para *T. foetus* e outros fragmentos podem ser utilizados para o isolamento e identificação de outros agentes, como *C. fetus*.

Em fetos abortados o parasito pode ser observado e cultivado a partir dos líquidos placentários, conteúdo abomasal, “swab” do muco na base da língua e no palato (Morgan, 1944a). Em cortes histológicos com colorações específicas, o agente pode ser encontrado no pulmão na forma livre ou fagocitado, e também, no estroma placentário (Morgan, 1944a; Rhyan et al., 1988).

Alguns resultados da pesquisa conduzida por van Bergen et al. (2005) mostraram que 96% dos países respondentes coletam amostras de prepúcio por meio do lavado e 92% coletam órgãos internos e conteúdo estomacal de fetos abortados, além disso, 73% dos países utilizam algum meio de transporte ou enriquecimento. Apesar dos resultados relatados serem referentes a apenas 26 países, ou seja, 16% dos países membros da OIE, eles foram importantes para detectar a falta de padronização nas metodologias utilizadas, o que pode resultar em altas variações na sensibilidade.

2.4 Tratamento

Em touros, o tratamento é recomendado e somente se justifica quando o animal é de alto valor zootécnico e econômico. Portanto, não é indicado o tratamento indiscriminado para um grande número de animais (Pellegrin & Leite, 2003; Yaeger & Holler, 2007), pois além dos custos com assistência veterinária e medicamentos é necessário tempo e esforços para que o tratamento seja bem sucedido.

2.4.1 CGB

Alguns protocolos com antibióticos têm sido descritos no tratamento da CGB, dentre os antibióticos utilizados estão a estreptomicina, a dihidroestreptomicina, a penicilina, a neomicina e a eritromicina (Garcia et al., 1983; Dekeyser, 1986; Quinn et al. 2001; Noakes et al., 2001; Vargas et al., 2005; Alves et al., 2011).

Vargas et al. (2005) determinaram o perfil de suscetibilidade *in vitro* aos antimicrobianos de amostras de *C. fetus* subsp. *venerealis* e relataram resistência do agente ao ácido nalidíxico (100%), lincomicina (42,86%) e enrofloxacina (4,76%), em contrapartida houve 100% de suscetibilidade à estreptomicina, gentamicina e penicilina. Moynihan & Stovell (1955) relataram a utilização de infusão uterina com 1g de estreptomicina dissolvida em 20 mL de água destilada, eles recomendaram que todas as vacas do rebanho sejam tratadas durante o estro e sejam cobertas no próximo estro. Não foi relatada a eficiência do tratamento,

além disso, os mesmos autores sugeriram a participação do touro como fonte de infecção, assim o tratamento de fêmeas pode ser inviável e ineficaz.

Dekeyser (1986) relatou o uso de uma combinação de neomicina (10g) e eritomicina (4g) em 200g de polietilenoglicol aplicada no prepúcio e no pênis exteriorizado e limpo por três dias consecutivos. Garcia et al. (1983), Noakes et al. (2001), Quinn et al. (2001) e Alves et al. (2011) citaram o uso da dihidroestreptomicina, com bons resultados, no tratamento da CGB. Indicaram o tratamento com a administração três doses na concentração de 22 a 25 mg/kg via parenteral a cada 48hs intercaladas com aplicação tópica de solução com 5g do antibiótico no pênis e prepúcio com a realização de massagens vigorosas.

2.4.2 TGB

BonDurant (2005) e Alves et al. (2011) concordaram que no caso da TGB, o tratamento é mais complicado em razão do grande número de princípios ativos e protocolos de tratamentos preconizados. Diversos fármacos apresentam atividade sobre *T. foetus in vitro*, como os nitrofuranos e os imidazóis substituídos (metronidazol, ipronidazol, dimetridazol). De acordo com BonDurant (2005), esses fármacos não apresentam atividade no tratamento *in vivo* ou não são aprovados pelo *Food and Drug Administration (FDA)*, órgão americano responsável, entre outras funções, pela regulamentação do uso de medicamentos humanos e veterinários.

Dentre os fármacos estudados que apresentaram bons resultados estão o dimetridazol por via oral, o ipronodazol e metronidazol por via parenteral, tripaflavina e acriflavina de uso tópico (Ferreira et al., 2002; Pellegrin & Leite, 2003; Carvalho & Rodrigues, 2006; Alves et al., 2011). Alguns fármacos foram utilizados em uma única aplicação, mas a maioria (dimetridazol, ipronidazol e metronidazol) é utilizada por três ou mais aplicações, além disso, não há formulações veterinárias para alguns fármacos (tripaflavina, acriflavina), ou estão disponíveis apenas em formulações para pequenos animais (dimetridazol, metronidazol. SINDAN, 2011).

A maioria das fêmeas consegue recuperar-se após descanso sexual de aproximadamente 90 dias (3 a 4 ciclos estrais), as fêmeas que apresentarem piometra devido a *T. foetus*, devem ser tratadas individualmente para piometra (Morgan, 1944a; Rae & Crews, 2006). O sucesso para o tratamento da TGB e da CGB é avaliado por meio de três testes

consecutivos com intervalos de 7 a 15 dias de repouso sexual, todos os resultados devem ser negativos para que o animal seja considerado curado, animais que não respondam ao tratamento devem ser descartados (Pellegrin & Leite, 2003; OIE, 2011c; Alves et al, 2011).

2.5 Imunoprofilaxia

Existem estudos e resultados de pesquisas com vacinação de machos e fêmeas, no entanto é importante ressaltar que não estão disponíveis no mercado nacional vacinas para nenhuma das duas doenças (SINDAN, 2011).

2.5.1 CGB

Programas de vacinação têm obtido sucesso no controle da CGB em situações nas quais a IA não pode ser empregada (Leite, 1977; Noakes et al., 2001). Hoffer (1981) afirmou que sem a utilização de vacinação, o controle e prevenção da CGB podem ser difíceis. BonDurant (2005) afirmou que a vacina contra CGB pode ser utilizada para tratar touros infectados, bem como para prevenir ou reduzir a infecção, corroborando com essa afirmação, Fóscolo et al. (2005) demonstraram que a vacinação de touros com a bacterina de *C. fetus* subsp. *venerealis* pode ser uma estratégia adicional importante no controle da CGB.

Wilkie e Winter (1971) demonstraram a eficácia na imunização com o agente morto em novilhas infectas experimentalmente após a aplicação da vacina. Trabalhos mais recentes buscaram evidenciar a eficiência de vacinas comerciais e experimentais contra CGB, Cobo et al. (2003) demonstraram que duas vacinas comerciais não foram capazes de prevenir o impacto negativo da CGB no rebanho, em outra publicação um ano mais tarde, Cobo et al. (2004) compararam a eficácia de uma vacina comercial e outra experimental que continham antígenos de *C. fetus* subsp. *venerealis* e *T. foetus* e concluíram que os animais vacinados com uma das duas vacinas resistiram ou eliminaram rapidamente a infecção, além disso, as novilhas vacinadas tiveram a taxa de prenhez e a resposta imune sistêmica mais altas do que o grupo não vacinado e infectado, durante e após a estação de monta. De acordo com BonDurant (2005), a alta eficácia e o preço da vacina disponível para *C. fetus* subsp.

venerealis é em parte responsável pela diminuição no número de casos reportados por laboratórios do oeste dos Estados Unidos.

2.5.2 TGB

De acordo com BonDurant (2005), o rótulo da vacina disponível para TGB não traz informações sobre a eficácia profilática ou terapêutica em touros, o que para o autor apenas sugere que a eficácia ainda não tenha sido testada, e mais do que relatos de animais que tenham apresentado resultados negativos em testes após imunoterapia, estudos precisam ser desenvolvidos para comprovar essa cura. Rae & Crews (2006) afirmaram que parece não haver benefícios na vacinação de touros, no entanto, recentemente, Cobo et al. (2010) demonstraram que a vacinação em touros induz imunidade local e sistêmica e confere resistência à colonização por *T. foetus* nos animais desafiados, apesar desse estudo sugerir a vacinação de touros, estudos com resultados de desafios à campo devem ser realizados para confirmar essa proteção.

A vacinação de fêmeas contra TGB é uma importante ferramenta na redução das perdas gestacionais que são características da doença, a vacina não previne a infecção ou a doença, mas reduz a severidade e a sua duração. Kavasnicka et al. (1992, *apud* BonDurant 2005) compararam taxas de gestação e parto entre novilhas de corte vacinadas e novilhas controle, todas foram expostas à touros infectados e receberam um desafio intravaginal de *T. foetus*, ao final, a taxa de partos no grupo vacinado foi quase o dobro do grupo controle. Apesar da ausência de um grupo não imunizado e não desafiado ter dificultado a interpretação desse estudo, pois não foi possível saber a taxa de partos desse rebanho naquelas condições geográficas, o estudo mostrou que existe efeito geral positivo.

A vacinação para o controle da TGB é mais complicada, pois a eficácia da vacina é menor do que para CGB e a vacina é considerada mais cara (BonDurant, 2005). Para tentar responder a pergunta: “Devo vacinar para TGB?” e avaliar as vantagens da vacinação contra TGB, Villarroel et al. (2004 *apud* BonDurant 2005) desenvolveram um modelo matemático que considerou os principais fatores de risco (número e idade dos touros, o “status” da doença no local do estudo, uso de pastos compartilhados, entre outros) e custos financeiros, e concluiu que o uso de medidas que mitiguem os riscos apresentaram maior retorno econômico

do que a vacinação, no entanto, em locais nos quais a redução dos riscos não é factível, o modelo indica que o uso da vacina reduz as perdas econômicas devido à TGB.

Cobo et al. (2011) afirmaram que a vacinação sistêmica com antígenos de *T. foetus* e *C. fetus* subsp. *venerealis* previnem ou eliminam a infecção genital na maioria dos touros por meio da indução da produção de IgG genital e sistêmica. Alves et al. (2011) afirmaram que em função das dificuldades de implementação de outras medidas de controle nas condições brasileiras, a utilização da vacina poderia contribuir para o controle da TGB, no entanto, esforços para estimular a implementação de medidas de controle devem ser feitos, antes do emprego da vacinação de forma ampla e indiscriminada.

2.6 Medidas de Prevenção para Campilobacteriose e Tricomonose Genitais Bovina

A maneira mais efetiva de controle da CGB e da TGB é a prevenção da entrada da doença no rebanho (Hall et al., 2010). A prevenção de doenças no rebanho bovino envolve a aplicação de princípios básicos da criação de gado, que são princípios comuns para se alcançar o melhor estado possível quanto à produtividade e a sanidade dos animais. A prevenção e o controle devem ser baseados nos seguintes aspectos das enfermidades: (1) transmissão venérea, (2) touros velhos podem ser portadores assintomáticos, (3) vacas infectadas geralmente tornam-se imunes três a seis meses após a infecção, (4) a vacinação de touros e vacas é profilática e curativa (Yaeger & Holler, 2007).

Rae & Crews (2006), Campero & Gottstein (2007) e outros autores revisaram alguns elementos de um programa de prevenção descritos como medidas que podem reduzir o risco de introdução da CGB e da TGB em um rebanho, são elas:

- a) Controle do trânsito animal na propriedade. Prevenir a saída dos animais para outros rebanhos, assim como a entrada de animais de rebanhos vizinhos que possam estar infectados, esse controle inclui cercamento adequado da propriedade (Yaeger & Holler, 2007);
- b) Evitar o compartilhamento de pastagens, para não haver o risco de contato entre rebanhos livres da doença e contaminados. É prática comum em algumas regiões dos Estados Unidos o compartilhamento de pastagem em terras públicas; No Brasil ocorre a prática de aluguel ou arrendamento de pastagens em outras propriedades, deve-se observar a presença de outros animais ou rebanhos na mesma propriedade;

- c) Adquirir touros e novilhas virgens para a reposição do rebanho, uma vez que a doença é de transmissão venérea, é importante utilizar na reposição apenas animais que nunca tiveram contato sexual (Hoffer, 1981; Yaeger & Holler, 2007);
- d) Realizar exames diagnósticos em todos os touros adquiridos, inclusive nos touros virgens, pois pode não haver a garantia efetiva da ausência de contato sexual prévio. A vigilância estrita de touros e vacas por métodos diagnósticos é a medida de prevenção mais efetiva contra CGB e TGB (Dufernez et al., 2007);
- e) Utilizar estação de monta com duração de 60 a 90 dias, pois uma estação de monta prolongada ou a ausência da estação mascara as perdas de produtividade atribuídas à CGB e à TGB; A utilização do diagnóstico precoce de gestação irá auxiliar na detecção rápida de perdas reprodutivas causadas pelas doenças (Hall et al., 2010);
- f) Vacas e novilhas recém compradas devem ser cobertas e permanecer durante a gestação em pasto separado das demais matrizes do rebanho. Para reduzir o risco de exposição às vacas portadoras, essa separação deve permanecer até a próxima estação reprodutiva;
- g) Manter a média de idade dos touros a menor possível, o aumento da idade é um fator de risco para touros tornarem-se portadores assintomáticos das doenças;
- h) Não misturar vacas ou novilhas com “status” sanitário desconhecido durante a estação de monta. A imunização contra outras doenças, como leptospirose e brucelose são importantes.

2.7 Medidas de Controle da Campilobacteriose e Tricomonose Genitais Bovina

Uma vez confirmada a presença de *C. fetus* subsp. *venerealis* e de *T. foetus* no rebanho, as medidas citadas acima contribuem para a eliminação da doença, no entanto, outras medidas devem ser tomadas para acelerar um programa de erradicação. Baseados nos aspectos das doenças, citados no item prevenção, o controle da CGB e da TGB devem considerar primordialmente as seguintes ações: (1) prevenir a transmissão de *C. fetus* subsp. *venerealis* e de *T. foetus*, (2) eliminar a infecção do rebanho, (3) evitar uma nova introdução dos agentes na propriedade (Pellegrin, 2002; Yaeger & Holler, 2007). Rae & Crews (2006), Campero & Gottstein (2007) e outros autores também enumeraram algumas medidas para o controle dessas doenças, são elas:

- a) Realização de testes em touros e descarte dos animais positivos, esse procedimento deve ser realizado antes da estação de monta e pode ser repetido ao final (Jimenez et al., 2011). O descarte periódico de touros velhos (acima de 6 anos) também é preconizado (Pellegrin & Leite, 2003), para que se possa reduzir a média de idade dos reprodutores (Hall et al., 2010) e diminuir a probabilidade de ter animais portadores permanentes no rebanho;
- b) Adquirir animais apenas de propriedades com “status” sanitário conhecido, ainda que sejam touros virgens. Não introduzir no rebanho, fêmeas prenhes, com histórico de aborto ou falhas reprodutivas, fazer reposição somente com novilhas;
- c) Reduzir ao máximo o número de reprodutores no rebanho e manter sempre o mesmo touro reproduzindo com o mesmo grupo de fêmeas até que a doença esteja sob controle. Essa medida é necessária para que seja possível determinar qual grupo de fêmeas e touros podem estar sob risco da doença e com isso evitar maior propagação da enfermidade no rebanho;
- d) Criação e manutenção de grupos de baixo e alto risco: os touros infectados são levados a cobrir sempre as mesmas fêmeas, e novilhas ou vacas que levaram a gestação a termo devem ser cobertas por touros comprovadamente negativos (Pellegrin & Leite, 2003);
- e) Reduzir a estação de monta para não mais de 90-120 dias, inicialmente, e realizar o diagnóstico de gestação de 45 a 60 dias após (Hall et al., 2010). As vacas que não estiverem gestantes devem ser separadas num grupo considerado de alto risco, para reduzir o risco de propagação da doença;
- f) O descarte das vacas do grupo acima deve ser considerado, pois esses animais apresentam alto risco de estarem infectados e serem animais portadores, além disso, as fêmeas que abortarem ou apresentarem piometra se não forem imediatamente descartadas, devem ser colocadas no grupo de alto risco e após a confirmação da infecção devem ser descartadas;
- g) Repouso sexual para as fêmeas por, no mínimo, três ciclos consecutivos (Morgan, 1944a);
- h) Evitar a utilização de touros arrendados, emprestados ou em parceria, assim como evitar a utilização de pastagens comuns (Yaeger & Holler, 2007);
- i) A vacinação, como discutida anteriormente, pode ser utilizada como auxiliar no programa de controle da doença, entretanto, a eficiência da vacinação não é suficiente para que seja recomendada em detrimento de outros métodos de controle

aqui citados (Hoffer, 1981; Pellegrin & Leite, 2003; Cobo et al., 2010; Jimenez et al., 2011);

- j) Considerando a transmissão venérea da CGB e da TGB, a utilização da IA com sêmen de touros comprovadamente negativos é um dos métodos de controle mais citados na literatura (Morgan, 1948; Gomes et al., 1991; Taylor et al., 1994; Felleisen et al., 1998; Noakes et al., 2001; Carvalho & Rodrigues, 2006; Yaeger & Holler, 2007), no entanto, é necessário o manejo exclusivo com IA, ou seja, sem a utilização de touros de repasse, pois esses animais podem contribuir para a manutenção da doença no rebanho (Pellegrin & Leite, 2003). Além disso, a IA é difícil de ser empregada em rebanhos nos quais predominam o sistema de criação extensivo, em função do alto custo, das dificuldades tecnológicas e de recursos humanos das propriedades (Cobo et al., 2004; Alves et al., 2011).

A citação da IA como medida de controle foi, talvez, mal interpretada por alguns autores, essa tecnologia não tem como principal objetivo controlar ou erradicar doenças sexualmente transmissíveis, o que foi observado é que países ou rebanhos que aplicaram a técnica obtiveram redução no número de casos de determinadas enfermidades, logo o controle dessas enfermidades foi um resultado secundário à aplicação da técnica. As outras medidas citadas não devem ser negligenciadas em função, apenas da implantação da IA. Além disso, como citado anteriormente, o uso de touros de repasse ou de rufiões vasectomizados dentro de um programa de IA pode introduzir ou manter a doença no rebanho (Modolo et al., 2000; Stynen et al., 2003)

As estratégias de controle podem variar em cada propriedade, diversos fatores devem ser considerados no planejamento e execução de um programa de controle e erradicação, é importante para o médico veterinário o conhecimento do estado sanitário do rebanho, da doença, sua patogenia e características importantes e das ferramentas disponíveis para o tratamento, para que ele possa prestar assistência de forma adequada e ser capaz de demonstrar ao produtor os prejuízos que a doença causa e os benefícios da implantação de simples técnicas de manejo à programas mais complexos de controle e erradicação.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, T.M.; STYNEN, A.P.R.; MIRANDA, K.L.; LAGE, A.P. Campilobacteriose genital bovina e Tricomonose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 336-344, 2011.
- ANDERSON, M.L.; BARR, B.C.; CONRAD, P.A. Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 10, p. 439-461. 1994.
- AYDINTUG, M.K.; LEID, R.W.; WIDDERS, P.R. Antibody enhances killing of *Tritrichomonas foetus* by the alternative bovine complement pathway. **Infection and Immunity**, v. 58, n. 4, p. 944-948, 1990.
- AYDINTUG, M.K.; WIDDERS, P.R.; LEID, R.W. Bovine polymorphonuclear leucocyte killing of *Tritrichomonas foetus*. **Infection and Immunity**, v. 61, n. 7, p. 2995-3002, 1993.
- BAR, T.Z.; YEHUDA, R.; HACHAM, T., et al. Influence of *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* on ram sperm cell quality. **Journal of Medical Microbiology**, v. 57, p. 1405-1410, 2008.
- BARBOSA, F.A.; GRAÇA, D.S.; ANDRADE, V.J.; CEZAR, I.M. [2009] **A realidade econômica da pecuária bovina de corte brasileira na última década**. Disponível em: < <http://pt.engormix.com/MA-pecuaria-corte/artigos/p0.htm> > Acesso em: 01/12/2011.
- BASTYNS, K.; CHAPELLE, S.; VADAMME, P., et al. Species-specific detection of campylobacters important in veterinary medicine by PCR amplification of 23S rDNA areas. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 563-568, 1995 (Abstract).
- BENCHIMOL, M.; FONTES, R.S.; DIAS, A.J.B. *Tritrichomonas foetus* damages bovine oocytes in vitro. **Veterinary Research**, v. 38, p. 399-408, 2007.
- BENCHIMOL, M.; ROSA, I.A.; FONTES, R.S., et al. *Tritrichomonas* adheres and phagocytose sperm cells: adhesion seems to be a prominent stage during interaction. **Parasitology research**, v. 102, p. 597-604, 2008.
- BETERRO, L.B.; TON, N.C.; BARIONI, G., et al. Pesquisa de *Campylobacter fetus* em prepúcio de touros, em uma propriedade rural do Espírito Santo, Brasil. In: VIII Congresso

- Brasileiro de Buiatria, 8, 2009, Belo Horizonte. **Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, Ciência Animal Brasileira**, suplemento 1, p. 486-491, 2009.
- BIELANSK, A.; SAMPATH, M. GRADIL, C.. et al. *In vitro* fertilization of bovine ova in the presence of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 29, p. 488-493, 1994 (Abstract).
- BIELANSK, A.; GHAZI, D.F.; PHIPPS-TOODD, B. Observations on the fertilization and development of preimplantation bovine embryos in vitro in the presence of *Tritrichomonas foetus*. **Theriogenology**, v.61, p. 821-829, 2004.
- BLASER, M.J.; SMITH, P.F.; HOPKINS, J.A., et al. Pathogenesis of *Campylobacter fetus* infections: serum resistance associated with high-molecular-weight surface proteins. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 155, n.4, p. 696-706, 1987.
- BONDURANT, R.H.; VAN HOOSEAR, K.A.; CORBEIL, L.B.; BERNOCO, D. Serological response to in vitro-shed antigen(s) of *Tritrichomonas foetus* in Cattle. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 3, n. 4, p. 432-437, 1996.
- BONDURANT, R.H. Inflammation in the bovine female reproductive tract. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 101-110, 1999.
- BONDURANT, R.H. Venereal diseases of cattle: natural history, diagnosis, and the Role of vaccines in their control. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 21, p. 383-408, 2005.
- BROOKS, B.W.; ROBERTSON, R.H.; WALLACE, C.L.L.; PFAHLER, W. Monoclonal antibodies specific for *Campylobacter fetus* lipopolysaccharides. **Veterinary Microbiology**, v. 87, p. 37-49, 2002.
- BROOKS, B.W.; DEVENISH, J.; WALLACE, C.L.L., et al. Evaluation of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Campylobacter fetus* in bovine preputial washing and vaginal mucus samples. **Veterinary Microbiology**, v. 103, p. 77-84, 2004.
- BRYAN, L.A.A.; CAMPBELL, J.R.; GAJADHAR, A.A. Effects of temperature on the survival of *Tritrichomonas foetus* in transport, Diamond's and InPouch media. **Veterinary Record**, v. 144, p. 227-232, 1999.
- BURGESS, D.E.; KNOBLOCK, K.F.; DAUGHERTY, T.; ROBERTSON, N.P. Cytotoxic and hemolytic effects of *Tritrichomonas foetus* on mammalian cells. **Infection and Immunity**, v. 58, n. 11, p. 3627-3632, 1990.
- BURGESS, D.E.; MCDONALD, C.M. Analysis of adhesion and cytotoxicity of *Tritrichomonas foetus* to mammalian cells by use of monoclonal antibodies. **Infection and Immunity**, v. 60, n. 10, p. 4253-4259, 1992.
- CAMPERO, C.M.; MOORE, D.P.; ODEÓN, A.C., et al. Aetiology of Bovine Abortion in Argentina. **Veterinary Research Communications**, v. 27, p. 359-369, 2003.
- CAMPERO, C.M.; ANDERSON, M.L.; WALKER, R.L., et al. Immunohistochemical identification of *Campylobacter fetus* in natural cases of bovine and ovine abortions.

- Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health**, v.52, n. 3, p. 138-141, 2005.
- CAMPERO, C.M.; GOTTSTEIN, B. Control Measures: Tritrichomonosis. In: ORTEGA-MORA. L.M.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F.J.; BUXTON, D. (Eds) **Protozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for Diagnosis and Control**. United States: CABI publishing, 2007, p. 232-262.
- CARVALHO, D.V.; RODRIGUES, A.F.S.F. *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 1928) (Protista, Trichomonadidae) e a implicação na pecuária do Brasil. **CES Revista - Periódico oficial do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora**, v. 20, p. 113-132, 2006.
- CATENA, M.; TERUEL, M.; MORÁN, P., et al. Evaluación Del desarrollo preimplantacional de embriones murinos *in vitro* em presencia de *Campylobacter fetus venerealis*. **Revista Veterinaria**, v. 19, n. 2, p. 109-113, 2008.
- CHIAPPARRONE, M.L.; MORÁN, P.E.; PASUCCI, J.A., et al. Quatitative analysis of *Campylobacter fetus venerealis* adhesion to bovine reproductive tract cell cultures. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 1, p. 73-78, 2011.
- COBO, E.R.; CIPOLLA A.; MORSELLA, C., et al. Effect of two commercial vaccines to *Campylobacter fetus* subspecies oh heifers naturally challenged. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, n. 2, p. p. 75-80, 2003.
- COBO, E.R.; MORSELLA, C.; CANO, D.; CIPOLLA, A.; CAMPERO, C.M. Immunization in heifers with dual vaccines containing *Tritrichomonas foetus* and *Campylobacter fetus* antigens using systemic and mucosal routes. **Theriogenology**, v. 62, p. 1367-1382, 2004.
- COBO, E.R.; CORBEIL, L.B.; GERSHWIN, L.J.; BONDURANT, R.H. Preputial cellular antibody responses of bulls vaccinated and/or challenged with *Tritrichomonas foetus*. **Vaccine**, v. 8, p. 361-370, 2010.
- COBO, E.R.; CORBEIL, L.B.; BONDURANT, R.H. Immunity to infections in the lower genital tract of bulls. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 89, p. 55-61, 2011.
- CORBEIL, L.B.; DUNCAN, J.R.; SCHURIG, G.G.D.; WINTER, A.J. Bovine Venereal Vibriosis: Variations in immunoglobulin class of antibodies in genital secretions and serum. **Infection and Immunity**, v. 10, n. 5, p. 1084-1090, 1974.
- CORBEIL, L.B.; MUNSON, L.; CAMPERO, C.; BONDURANT, R.H. Bovine Trichomoniasis as a model for development of vaccines against sexually-tranmitted disease. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 45, p 310-319, 2001.
- DEKEYSER, P.J. Bovine Genital Campylobacteriosis. In: BUTZLER, J.P. (Ed.) **Campylobacter Infection in Man and Animals**, Florida: CRC Press, 1984. p. 181-191.
- DEKEYSER, P.J. Bovine Genital Campylobacteriosis. In: MORROW, D.A. (Ed.) **Current Therapy in Theriogenology**. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1986. p. 263-266.

- DUFERNEZ, F.; WALKER, R.L.; NOËL, C., et al. Morphological and molecular identification of non-*Tritrichomonas foetus* trichomonad protozoa from the bovine preputial cavity. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 161-168, 2007.
- EAGLESOME, M.D.; SAMPATH, M.I.; GARCIA, M.M. A detection assay for *Campylobacter fetus* in bovine semen by restriction analysis of PCR amplified DNA. **Veterinary Research Communications**, v. 19, p. 253-263, 1995.
- FELLEISEN, R.S.J.; LAMBELET, N.; BACHMANN, P., et al. Detection of *Tritrichomonas foetus* by PCR and DNA enzyme immunoassay based on rRNA gene unit sequences. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 513-519, 1998.
- FELLEISEN, R.S.J. Host-parasite interaction in bovine infection with *Tritrichomonas foetus*. **Microbes and Infection**, v. 1, p. 807-816, 1999.
- FERNANDES, J.C.T.; DUTRA, V. Conservação de *Tritrichomonas foetus* em líquido amniótico. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFGRS**, v. 7, p. 149-151, 1979.
- FERREIRA, A.J.P.; PIZARRO, L.D.C.R.; DELL'PORTO, A.; Agentes Antiprotozoários. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. (Eds.) **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 490-504.
- FIGUEIREDO, J.F.; PELLEGRIN, A.O.; FÓSCOLO, C.B., et al. Evaluation of direct fluorescent antibody test for the diagnosis of bovine genital campylobacteriosis. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 44, n. 3-4, p. 118-123, 2002.
- FLETCHER, R.D.; PLASTRIDGE, W.N. Gaseous environment and growth of microaerophilic vibrios. **Journal of Bacteriology**, v. 87, n. 2, p. 352-355, 1964.
- FÓSCOLO, C.B.; PELLEGRIN, A.O.; LEITE, R.C., et al. Vaccination of bulls against bovine genital campylobacteriosis: a therapeutic approach. **Animal Reproduction**, v. 2, n. 2, p. 122-127, 2005.
- FOSTER, R.A.; LADDS, P.W. Male Genital system. In: MAXIE, M.G. (Ed.), **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5 ed., Vol.3 Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. p. 565-617.
- FREITAS, P.F.A.; SAQUY, A.C.S.; DINIZ, E.G. Pesquisa de Campilobacteriose Genital Bovina em touros do triângulo mineiro. **Veterinária Notícias**, v. 12, n. 2, p. 123.
- FUJIMOTO, S. Pathogenesis of *Campylobacter fetus* infection. **Fukuoka Igaku Zasshi**, v. 94, n. 7, p. 225-234, 2003 (Abstract).
- GARCIA, M.M.; RUCKERBAUER, G.M.; EAGLESOME, M.D.; BOISCLAIR, W.E. Detection of *Campylobacter fetus* in artificial insemination bulls with a transport enrichment medium. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 47, n. 3, p. 336-340, 1983.
- GARCIA, M.M.; WALLACE, C.L.L.; DENES, A.S., et al. Protein shift and antigenic variation in the s-layer of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* during bovine infection accompanied by genomic rearrangement of *sapA* homologs. **Journal of Bacteriology**, v. 177, n. 8, p. 1976-1980, 1995.

- GOMES, M.J.P.; FERNANDES, J.C.T.; SILVA, C.E.; SOUSA, S.T.B. Identificação do *Tritrichomonas foetus* em bovinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFGRS**, v. 19, p. 103-111, 1991.
- GROFF, A.C.M.; KIRINUS, J.K.; SILVA, M.A., et al. Polymerase chain reaction for the diagnosis of bovine genital campylobacteriosis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 1031-1035, 2010;
- HALL, R.; GILLIAM, J.; STEP, D.L. Bovine Trichomoniasis. **Division of Agricultural Sciences and Natural Resources – Oklahoma State University**, 2010, 2p. Disponível em <<http://osufacts.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-7271/VTMD-9134pod.pdf>> Acesso em: 18/09/2011.
- HO, M.S.Y.; CONRAD, P.A.; CONRADO, P.J., et al. Detection of bovine trichomoniasis with a specific DNA probe and PCR amplification system. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 98-104, 1994.
- HOFFER, M.A. Bovine Campylobacteriosis: A Review. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 22, n. 11, p. 327-330, 1981.
- IETS. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. Illinois (EUA). 4 ed., 2010. CD-Rom.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, v. 38, 2010, 65p. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 09/11/2011.
- JESUS, V.L.T; PEREIRA, M.J.S.; ALVES, P.A.M; FONSECA, A.H. Fatores intrínsecos do hospedeiro associados à prevalência de Tricomonose Genital Bovina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 4, p. 159-163, 2004.
- JIMENEZ, D.F.; PEREZ, A.M.; CARPENTER, T.E.; MARTINEZ, A. Factors associated with infection by *Campylobacter fetus* in beef herds in the province of Buenos Aires, Argentina. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 101, p. 157-162, 2011.
- JOENS, L.A.; HAESEBROUCK, F.; PASMANS, F. *Campylobacter* and *Helicobacter*. In: GYLES, C.L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J.G.; THOEN, C.O. (Eds.) **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 4 ed. United States: Iowa State University Press, 2010, p. 483-502.
- JUNQUEIRA, J.R.C.; ALFIERI, A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. **Semina - Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 289-298, 2006.
- KARMALI, M.A.; SKIRROW, M.B. Taxonomy of the genus *Campylobacter*. In: BUTZLER, J.P. (Ed.) **Campylobacter Infection in Man and Animals**, Florida: CRC Press, 1984. p. 1-16.
- LEAL, D.R.; FERNANDES, G.O.; GOUVEIA, F.F., et al. Estudo da Campilobacteriose Genital Bovina e Tricomonose Bovina no Distrito Federal e entorno. In: XIX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 19. 2011, Recife. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p. 171, 2011. CD-rom.

- LEITE, Rômulo Cerqueira. **Avaliação de alguns métodos de diagnóstico e análise custo/benefício do controle da campilobacteriose bovina.** Belo Horizonte: Escola de Veterinária UFMG, 1977, 38p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária da UFMG, 1977.
- LEITE, R.C.; HADDAD, J.P.; COSTA, G.M., et al. Técnica modificada para coleta de lavado prepucial de touros, para exame de trichomonose e ou campilobacteriose. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, p. 434, 1995.
- LUCAS, J.J.; HAYES, G.R.; KALSI, H.K., et al. Characterization of a cysteine pretease from *Tritrichomonas foetus* that induces host-cell apoptosis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 447, p. 239-243, 2008.
- LUN, Z.R.; PARKER, S.; GAJADHAR, A.A. Comparison of growth rates of *Tritrichomonas foetus* isolates from various geographic regions using three different culture media. **Veterinary Parasitology**, v. 89, p. 199-208, 2000.
- MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; STAHL, D.A.; CLARK, D.P. **Brock Biology of Microorganisms.** United States: Pearson Education, 2010, 1152 p.
- MANCEBO, O.A.; RUSSO, A.M.; CARABAJAL, L.L.; MONZON, C.M. Presistence of *Tritrichomonas foetus* in naturally infected cows and heifers in Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 59, p. 7-11, 1995.
- MCCOY, E.C.; DOYLE, D.; BURDA, K., et al. Superficial antigens of *Campylobacter (Vibrio) fetus*: Characterization and antiphagocytic component. **Infection and Immunity**, v. 11, n. 3, p. 517-525, 1975.
- MCFADDEN, A.M.; HEUER, C.; JACKSON, R., et al. *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis* in New Zealand beef herds – a diagnostic dilemma for clinicians. In: 10th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, 10, 2003, Chile. **Proceedings of the...** Vina del Mar, Chile, p. 340, 2003.
- MEGALE, F. Identificação do *Trichomonas foetus* em Minas Gerais (Comunicação). **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 15, p. 405, 1963,
- MELLO, M.R. Dados sobre a identificação da tricomonose bovina em alguns estados do Brasil. **Boletim de Inseminação Artificial**, Rio de Janeiro, v. 6, p. 16-23, 1954.
- MELLO, M.R. Meio prático para diagnóstico da tricomonose bovina. **Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 21, p. 11-19, 1953.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA [2011]. **Bovinos e Bubalinos.** Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br> > Acesso em: 28/12/2011.
- MIRANDA, Karina Leite. **Prevalência da infecção por *Campylobacter fetus* em bovinos de corte no Brasil em 2000.** Belo Horizonte: Escola de Veterinária UFMG, 2005, 47p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Escola de Veterinária da UFMG, 2005.

- MODOLO, J.R.; LOPES, C.A.M.; GENARI, T. Occurrence of *Campylobacter* in the genitals of teaser bulls maintained at an embryo transfer center. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 2, 2000.
- MONKE, H.J.; LOVE, B.C.; WITTUM, T.E., et al. Effect of transport enrichment medium, transport time and growth medium on the detection of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 14, p. 35-39, 2002.
- MOOLHUIJZEN, P.M., TABOR, A.L.; WLODEK, B.M., et al. Genomic analysis of *Campylobacter fetus* subspecies: identification of candidate virulence determinants and diagnostic assay targets. **BMC Microbiology**, v. 9, p.86, 2009.
- MORGAN, B. B. **Bovine Trichomoniasis**. Mineapolis: Burgess Publishing Co.; 1944a. 150p.
- MORGAN, B.B. Studies on the trichomonad carrier-cow problems. In: Thirty-Seventh Annual Meeting of the American Society of Animal Poduction. **Journal of Animal Sciences**, v. 3, p. 437, 1944b.
- MORGAN, B.B. The fertility of bovine spermatozoa treated with immune sera for the control of trichomoniasis. **Journal of Animal Science**, v. 7, p. 247-250, 1948.
- MOYNIHAN, I.W.M.; STOVELL, P.L. Vibriosis in cattle. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 19, n. 4, 1955.
- MUKHUFHI, N.; IRONS, P.C.; MICHEL, A.; PETA, F. Evaluation of a PCR test for the diagnosis of *Tritrichomonas foetus* infection in bulls: effects of sample collection method, storage and transport medium on the test. **Theriogenology**, v. 60, p. 1269-1278, 2003.
- NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 2, p. 99-105, 1999.
- NEVES, P.A.; CAMPERO, C.M.; MARTÍNEZ, A.; BANCHIMOL, M. Identification of *Tritrichomonas foetus* pseudocysts in fresh preputial secretion samples from bulls. **Veterinary Parasitology**, v. 175, p. 1-8, 2011.
- NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W.; ARTHUR, G.H. Specific infectious diseases causing infertility in cattle. In:_____. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. 8 ed., London: Saunders Elsevier, 2001. p. 473-509.
- OIE. Bovine Genital Campylobacteriosis. In: OIE. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Paris, 2008a. Disponível em: <www.oie.int>. Acesso em: 17/10/2011.
- OIE. Trichomoniasis. In: OIE. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Paris, 2008b. Disponível em: <www.oie.int>. Acesso em: 25/05/2011.
- OIE. List of tests for international trades. In: OIE. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Paris, 2009. Disponível em: <www.oie.int>. Acesso em: 17/10/2011.

- OIE. **World Animal Health Information Database – WAHID** [2011a]. Disponível em: <<http://www.oie.int>> Acesso em: 01/12/2011.
- OIE. Bovine Genital Campylobacteriosis. In: OIE. **Terrestrial Animal Health Code**. Paris, 2011b. Disponível em: <www.oie.int>. Acesso em: 17/10/2011.
- OIE. Collection and processing of bovine, small ruminant and porcine semen. In: OIE. **Terrestrial Animal Health Code**. Paris, 2011c. Disponível em: <www.oie.int>. Acesso em: 25/05/2011.
- ON, S.L.W.; HARRINGTON, C.S. Evaluation of numerical analysis of PFGE-DNA profiles for differentiating *Campylobacter fetus* subspecies by comparison with phenotypic, PCR and 16S rDNA sequencing methods. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, p. 285-293, 2001.
- PARKER, S.; CAMPBELL, J.; GAJADHAR, A.A. Comparison of the diagnostic sensitivity of a commercially available culture kit and a diagnostic culture test using Diamond's media for diagnosing *Tritrichomonas foetus* in bulls. **Journal of Veterinary Diagnostic**, v. 15, p. 460-465, 2003a.
- PARKER, S.; CAMPBELL, J.; RIBBLE, C.; GAJADHAR, A.A. Sample collection factors affect the sensitivity of the diagnostic test for *Tritrichomonas foetus* in bulls. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 67, p. 138-141, 2003b.
- PAZ JÚNIOR, C.J.; ALMEIDA, H.J.O.; JÚNIOR, H.A.F. et al. Frequencia de infecção por *Tritrichomonas foetus* (RIEDMULLER, 1928) em bovinos leiteiros do município de Sanharó – PE. **Medicina Veterinária**, v. 4, n. 1, p. 6-11, 2010.
- PEI, Z.; BLASER, M.J. Pathogenesis of *Campylobacter fetus* infections. Role of surface array proteins in virulence in a mouse model. **Journal of Clinical Investigation**, v. 85, p. 1036-1043, 1990.
- PELLEGRIN, A.O.; SERENO, J.R.B.; MAZZA, M.C.M.; LEITE, R.C. Doenças da reprodução e conservação genética: levantamento no núcleo de conservação do bovino pantaneiro. Comunicado Técnico Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 21, 1997. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/COT21.pdf>>. Acesso em: 02/02/2011.
- PELLEGRIN, A.O.; LEITE, R.C.; SERENO, J.R.B., et al. **Prevalência da campilobacteriose genital bovina em touros nelore do Pantanal mato-grossense**. Comunicado Técnico Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 23, 1999. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/COT23.pdf>>. Acesso em: 01/02/2011.
- PELLEGRIN, A.O. **A Campilobacteriose e a Tricomonose são doença reemergentes?**. Documentos Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 41, 2002. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC41.pdf>>. Acesso em: 03/04/2010.
- PELLEGRIN, A.O.; LAGE, A.P.; SERENO, J.R.B., et al. Bovine genital campylobacteriosis in Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, v. 55, n. 3, p. 169-173, 2002.

- PELLEGRIN, A.O.; LEITE, R.C. **Atualização Sobre Tricomonose Genital Bovina.** Documentos Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 54, 2003. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC54.pdf>>. Acesso em: 15/07/2010.
- PELLEGRIN, A.O.; FIGUEIREDO, J.F.; LEITE, R.C., et al. **Imunofluorescência direta: um teste sensível e específico para o diagnóstico da campilobacteriose genital em touros.** Circular Técnica: Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 44, 2003a. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT44.pdf>>. Acesso em: 07/04/2011.
- PELLEGRIN, A.O.; LEITE, R.C.; LAGE, A.P.; RAVAGLIA, E. **Coleta de material para diagnóstico das doenças que interferem com a reprodução de bovinos.** Circular Técnica: Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 45, 2003b. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT45.pdf>>. Acesso em: 18/07/2010.
- PEN, C.W. Surface components of *Campylobacter* and *Helicobacter*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, Supplement Issue 6, p. 25S-35S, 2001.
- PENNER, J.L. The genus *Campylobacter*: a decade of progress. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 1, n. 2, p. 157-172, 1988.
- PEREZ, A.; COBO, E.; MARTÍNEZ, A., et al. Bayesian estimation of *Tritrichomonas foetus* diagnostic test sensitivity and specificity in range beef bulls. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 159-162, 2006.
- PETER, D.A.; FALES, W.H.; MILLER, R.B., et al. *Tritrichomonas foetus* infection in a herd of Missouri cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p. 278-280, 1995.
- PETER, D. Bovine Venereal Diseases. In: YOUNGQUIST, R.S. (Ed.) **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. 1 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1997, p. 355-363.
- QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Mosby-Elsevier, 1994, 684 p.
- QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD. F.C. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. Oxford: Blackwell Science, 2001, 544 p.
- RABELLO, E.X. Incidência de *Trichomonas foetus* Riedmuller, 1928 em touros usados para inseminação artificial no estado de São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 5, n. 3, p. 539-548, 1955.
- RAE, D.O.; CREWS, J.E.; GREINER, E.C.; DONOVAN, G.A. Epidemiology of *Tritrichomonas foetus* in beef Bull populations in Florida. **Theriogenology**, v. 61, p. 605-618, 2004.
- RAE, D.O.; CREWS, J. E. *Tritrichomonas foetus*. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 22, p. 595-611, 2006.
- RHYAN, J.C.; SACKHOUSE, L.L.; QUINN, W.J. Fetal and placental lesions in bovine abortion due to *Tritrichomonas foetus*. **Veterinary Pathology**, v. 25, p. 350-355, 1988.

- RIBEIRO, C.M.; FALLEIROS, M.B.; BICUDO, S.D., et al. *Tritrichomonas foetus* extracellular products decrease progressive motility of Bull sperm. **Theriogenology**, v. 73, p. 64-70, 2010.
- ROCHA, F.S.; JESUS, V.L.T.; TORRES, H.M., et al. Investigação de *Campylobacter fetus* e *Tritrichomonas foetus* na mucosa prepucial de touros da região do Médio Paraíba, RJ. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1586-1589, 2009.
- ROEHE, R. Tricomoníase bovina. **Boletim Diretoria Produção Animal**. Porto Alegre, v. 4, p. 21-26, 1948.
- RUTKOWSKI, M.R.; HARMSSEN, A.G. *Tritrichomonas foetus*: Pathogenesis of acute infection on normal, estradiol-treated, and stressed mice. **Experimental Parasitology**, v. 115, p. 143-159, 2007.
- SAGER, H.; FERRE, I.; HENNING, K.; ORTEGA-MORA, L.M. Tritrichomonosis. In: ORTEGA-MORA, L.M.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F.J.; BUXTON, D. (Eds) **Protozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for Diagnosis and Control**. United States: CABI publishing, 2007, p. 232-262.
- SALAMA, S.M.; GARCIA, M.M.; TAYLOR, D.E. Differentiation of the subspecies of *Campylobacter fetus* by genomic sizing. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 42, n. 3, p. 446-450, 1992.
- SCHLAFER, D.H.; MILLER, R.B. Female Genital System In: MAXIE, M.G. (Ed.) **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5 ed., Vol.3 Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. p. 431-563.
- SCHÖNMANN, M.J.; BONDURANT, R.H.; GARDNER, I.A. et al. Comparison of sampling and culture methods for the diagnosis of *Tritrichomonas foetus* infection in bulls. **Veterinary Record**, v.134, p. 620-622, 1994 (abstract).
- SCHULZE, F.; BAGON, A.; MÜLLER, W.; HOTZEL, H. Identification of *Campylobacter fetus* subspecies by phenotypic differentiation and PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 2019-2024, 2006.
- SHISONG, C.; REDWOOD, D.W.; ELLIS, B. Control of *Campylobacter fetus* in artificially contaminated bovine semen by incubation with antibiotics before freezing. **British Veterinary Journal**, v. 146, n. 1, p. 68-74, 1990 (Abstract).
- SILVA, C.E.; GOMES, M.J.P.; SOUSA, S.T.B.; FERNANDES, J.C.T. Meios de isolamento e cultivo de *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 1928). **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFGRS**, v. 19, p. 113-124, 1991.
- SILVA, N.S.; FILHO, B.P.D.; SOUZA, W. Identification and localization of an adhesion on the surface of *Tritrichomonas foetus*. **Parasitology Research**, v. 85, p. 984-992, 1999.
- SINDAN 2010. **Compêndio de Produtos Veterinários**. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal. Disponível em: <<http://www.cpv.com.br/cpv/index.html>> Acesso em 10/08/2011.

- SMIBERT, R.M. The genus campylobacter. **Annual Review of Microbiology**, v. 32, p. 673-709, 1978.
- SMITH, T. Spirilla associated with disease of the fetal membranes in cattle (infectious abortion). **Journal of Experimental Medicine**, v. 28, n. 6, p. 701-719, 1918.
- SMITH, T. The etiological relation of spirilla (*Vibrio fetus*) to bovine abortion. **Journal of Experimental Medicine**, v. 30, n. 4, p. 313-323, 1919.
- SMITH, T.; TAYLOR, M.S. Some morphological and biological characters of the spirilla (*Vibrio fetus*, n. sp.) associated with disease of the fetal membranes in cattle. **Journal of Experimental Medicine**, v. 30, n. 4, p. 299-311, 1919.
- SMITH, T.; LITTLE, R.B.; TAYLOR, M.S. Further studies on the etiological role of *Vibrio fetus*. **Journal of Experimental Medicine**, v. 32, n. 6, p.683-689, 1920.
- SMITH, T. Further studies on the etiological significance of *Vibrio fetus*. **Journal of Experimental Medicine**, v. 37, n. 3, p.341-356, 1923.
- SOUSA, S.T.B.; FERNANDES, J.C.T.; SILVA, C.E.; GOMES, M.J.P. Métodos para colheita de *Tritrichomonas foetus* em fêmeas e machos bovinos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFGRS**, v. 19, p. 125-132, 1991.
- STOCKDALE, H.; RODNING, S.; GIVENS, M. et al. Experimental infection of cattle with a feline isolate of *Tritrichomonas foetus*. **Journal of Parasitology**, v. 93, n. 6, p. 1429-1434, 2007.
- STYNEN, Ana Paula Reinato. Detecção de *Campylobacter fetus* em lavados prepuciais de touros pela PCR. Belo Horizonte: Escola de Veterinária UFMG, 2000, 36p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Escola de Veterinária da UFMG, 2000.
- STYNEN, A.P.R.; PELLEGRIN, A.O.; FÓSCOLO, C.B., et al. Campilobacteriose genital bovina em rebanhos leiteiros com problemas reprodutivos da microrregião de Varginha – Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 766-769, 2003.
- STYNEN, A.P.R.; LAGE, A.P.; MOORE, R.J., et al. Complete genome sequence of type strain *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354. **Journal of Bacteriology**, v. 193, n. 20, p. 5871-5872, 2011.
- TAYLOR, M.A; MARSHALL, R.N.; STACK, M. Morphological differentiation of *Tritrichomonas foetus* from other protozoa of the bovine reproductive tract. **British Veterinary Journal**, v. 150, n. 1 p. 73-80, 1994.
- URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 304p.
- VAN BERGEN, M.A.P.; LINNANE, S.; VAN PUTTEN, J.P.M.; WAGENAAR, J.A. Global detection and identification of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. **Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties**, v. 24, n. 3, p. 1017-1026, 2005.

- VANDAMME, P. Taxonomy of the family *Campylobacteraceae*. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M.J. **Campylobacter**. United States: American Society for Microbiology, 2000, p. 3-26.
- VARGAS, A.C.; COSTA, M.M.; VAINSTEIN, M.H., et al. *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis* surface array protein from bovine isolates in Brazil. **Current Microbiology**, v. 45, p. 111-114, 2002.
- VARGAS, A.C.; COSTA, M.M.; VAINSTEIN, M.H., et al. Phenotypic and molecular characterization of bovine *Campylobacter fetus* strains isolated in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 93, p. 121-132, 2003.
- VARGAS, A.C.; COSTA, M.M.; GROFF, A.C.N., et al. Susceptibilidade antimicrobiana de *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* isolado de bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 1-3, 2005.
- VÉRON, M.; CHATELAIN, R. Taxonomic Study of the genus *Campylobacter* Sebald and Véron and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 23, n. 2, p. 122-134, 1973.
- WAGENAAR, J.A.; VAN BERGEN, M.A.P.; NEWELL, D.G., et al. Comparative study using amplified fragment length polymorphism fingerprinting, PCR genotyping to differentiate *Campylobacter fetus* strains isolated from animals. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 6, p. 2283-2286, 2001.
- WANG, E.; GARCIA, M.M.; BLAKE, M.S., et al. Shift in s-layer protein expression responsible for antigenic variation in *Campylobacter fetus*. **Journal of Bacteriology**, v. 175, n. 16, p. 4979-4984, 1993.
- WILKIE, B.N.; WINTER, A.J. Bovine vibriosis: The distribution and specificity of antibodies induced by vaccination and infection and the immunofluorescent localization of the organism in infected heifers. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 35, n. 4, p. 301-312, 1971.
- WILKIE, B.N.; DUNCAN, J.R.; WINTER, A.J. The origin, class and specificity of immunoglobulins in bovine cervico-vaginal mucus: variation with parenteral immunization and local infection with *Vibrio fetus*. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 31, p. 359-365, 1972.
- YAEGER, M.J.; HOLLER, L.D. Bacterial Causes of Bovine Infertility and Abortion. In: YOUNGQUIST, R.S.; THRELFALL, W.R. (Eds.) **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. Missouri: Saunders Elsevier, 2007, p. 389-399.
- YANG, L.; PEI, Z.; FUJIMOTO, S.; BLASER, M.J. Reattachment of surface array proteins to *Campylobacter fetus* cells. **Journal of Bacteriology**, v. 174, n. 4, p. 1258-1267, 1992.
- ZHAO, H.; LIU, H.; DU, Y., et al. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against *Campylobacter fetus* in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 88, p. 446-451, 2010.

CAPÍTULO 2

PREVALÊNCIA DA CAMPILOBACTERIOSE E DA TRICOMONOSE GENITAIS BOVINA EM ABATEDOUROS-FRIGORÍFICOS NO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO

1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a prevalência da campilobacteriose genital bovina (CGB) e da tricomonose genital bovina (TGB) no Distrito Federal e entorno. A estimativa da prevalência de cada doença foi realizada com base no exame de útero e vagina ou prepúcio de 398 animais abatidos em frigoríficos no DF e 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 8 dias, e examinadas diariamente ao microscópio utilizando 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 entorno. Dessa forma recomenda-se a inclusão dessa doença na lista de possíveis patologias que influenciem os índices reprodutivos de rebanhos nessa região.

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

2 ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the prevalence of bovine genital campylobacteriosis (BGC) and bovine genital trichomoniasis (BGT) in the Federal District and surroundings. The estimated prevalence of each disease was based on examination of the uterus and vagina or prepuce of 398 animals at slaughterhouses in the Federal District and surroundings. The diagnosis of *C. fetus* was done by direct immunofluorescence (DIF). For diagnosis of *T. foetus* “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. From 398 tested animals (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%). *Tritrichomonas foetus* was not isolated of any of the samples. The results confirm the presence of infection by *C. fetus* in cattle herds in the Federal District and surrounding areas. Thus it is recommended to include this disease in the list of possible diseases in herds which have low reproductive rates.

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

3 INTRODUÇÃO

De acordo com a Pesquisa Pecuária Municipal, disponibilizada pelo IBGE (IBGE, 2010), a região centro-oeste concentra a maior parte do efetivo bovino nacional, com cerca de 35% de todo o rebanho. Conforme Neves et al. (1999), a taxa de parição nesta região é de 57,9%, enquanto alguns autores afirmaram que a média nacional de fertilidade (expressa em % matrizes prenhas/matrizes totais/ano) não supera 50% (Ferraz, 1996; Jesus e Gabriel, 1998). Diante destes dados pode-se dizer que, 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 através de algumas variáveis como: número de serviços por concepção, duração do período de serviço, intervalo de partos, taxa de não retorno ao cio e principalmente pela taxa de parição, ou seja, a produção de bezerros.

As doenças que afetam a reprodução dos bovinos contribuem em grande parte para que estes índices venham se mantendo baixos. Entretanto enfermidades que apresentam sinais clínicos mais evidentes têm despertado maior interesse por parte dos técnicos e criadores, levando à implantação de programas de controle. Outras doenças, cuja principal manifestação é a repetição de cio, mesmo acarretando prejuízos pelo aumento do intervalo de partos têm passado, às vezes, completamente despercebidas. A Campilobacteriose genital bovina (CGB) e a Tricomonose genital bovina (TGB) são duas doenças que se encaixam nesta categoria (Ball et al., 1987).

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

Devido às 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. Aparentemente acreditava-se que esta doença já estivesse controlada, entretanto, mesmo com todas as tecnologias disponíveis para seu controle, os levantamentos epidemiológicos ainda indicam a presença destas enfermidades em rebanhos bovinos brasileiros. O objetivo deste trabalho foi estudar a prevalência da CGB e da TGB em animais abatidos em frigoríficos no Distrito Federal e entorno.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem

Para estimar a prevalência de cada doença foi realizado um inquérito com base no teste dos “swabs” de útero e vagina ou prepúcio de 398 animais, 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 uma prevalência de rebanho esperada de 50%, a um nível de confiança de 95% e um erro esperado de 5% e do 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 (sob inspeção Distrital) e os outros

dois em cidades da região do entorno (Novo Gama e Luziânia, sob inspeção federal e municipal, respectivamente). O entorno compreende as cidades do estado de Goiás que fazem divisa com o Distrito Federal. Não foi possível mapear a origem desses animais devido à falta de fornecimento de informações por parte dos estabelecimentos.

4.2 “Swabs” de útero ou prepúcio

Os procedimentos de preparo dos aparelhos reprodutivos, coleta, processamento e análise das amostras para diagnóstico da CGB e da TGB foram realizados no Laboratório de Patologia Veterinária e no Laboratório de Reprodução Animal da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Para coleta de material foram utilizados úteros e vagina de fêmeas ou prepúcio de machos. Os úteros e vaginas ou prepúcios foram abertos com instrumental 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 Diamonds, e mantido protegido de luz a temperatura ambiente, para diagnóstico de tricomonose genital bovina.

4.3 Reação de Imunofluorescência direta

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 refrigeradas (10 °C): a primeira a 600g, por 10 min, obtendo-se um sobrenadante que foi então centrifugado a 13000g por 30 minutos. O sedimento da segunda centrifugação foi ressuspenso em 500 µL de PBS (pH 7,4), homogeneizado e 20 µL da suspensão 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 coelhos com a amostra *C. fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354 e conjugado com fluoresceína (Sigma, USA) segundo Ruckerbauer et al. (1974). O conjugado foi produzido na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. 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 foi utilizada glicerina tamponada (pH 9,2) e o material coberto com lamínula. Como controle positivo foi utilizado *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*, ou seja, bactérias espiraladas em forma de “S”, vírgula ou asa de gaivota.

4.4 Cultivo e isolamento de *T. foetus*

Os “swabs” destinados ao diagnóstico de tricomonose foram lavados em meio de Diamond (Stoessel, 1982), protegidos da luz e incubados a 37 °C, por um período mínimo de 72h até 8 dias. A confirmação de um cultivo positivo fundamentou-se na visualização do parasito, através 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 confere positividade ao material.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

T. foetus não foi isolado de nenhuma das amostras coletadas, 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 podem 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, Fox et al. (1995) não isolaram *T. foetus* em 450 amostras de touros coletadas em abatedouro na Carolina do Norte, EUA. Esse resultado não confirma a inexistência da doença nos rebanhos do Distrito Federal e entorno,

uma vez que se tratou de um estudo de prevalência, ou seja, um levantamento baseado no resultado de um único teste. Para o diagnóstico da TCG e da CGB é recomendado a realização de três testes consecutivos com intervalos de 7 a 15 dias de repouso sexual para aumentar a sensibilidade do diagnóstico (Noakes et al., 2001; Pellegrin et al., 2003; OIE, 2011).

Os resultados obtidos no diagnóstico da CGB demonstraram uma prevalência relativamente alta dessa infecção na região do Distrito Federal e 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. 2.1).

Tabela 2.1 - Distribuição da frequência de Campilobacteriose Genital Bovina em “swabs” coletados de machos e fêmeas em abatedouros do Distrito Federal e entorno

	Positivos		Negativos		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
Fêmeas	27	10,5	231	89,5	258	64,8
Machos	17	12,1	123	87,9	140	35,2
Total	44	11,1	354	88,9	398	100

Esse resultado é semelhante ao relatado em outros trabalhos realizados no Brasil (Castro et al., 1967; Castro et al., 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., 2002; Stynen et al., 2003). No entanto não se pode concluir que a prevalência encontrada nesse trabalho seja menor ou maior que as estimadas nos estudos citados, pois os delineamentos experimentais são muito diferentes, em muitos desses estudos os autores não utilizaram um delineamento experimental com objetivo de estimar prevalência, muitos fizeram levantamentos especificamente em propriedades com baixos índices 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.

6 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo evidenciaram a presença da infecção por *Campylobacter fetus*, em rebanhos bovinos da região do Distrito Federal e entorno. Assim, recomenda-se a

inclusão da pesquisa de CGB na rotina de diagnóstico laboratorial, e na lista de prováveis doenças que causem baixos índices reprodutivos em rebanhos da região. Assim como o diagnóstico de TGB, pois os resultados apresentados não excluem a possibilidade da existência da doença nos rebanhos do Distrito Federal e Entorno.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, T.M.; STYNEN, A.P.R.; MIRANDA, K.L.; LAGE, A.P. Campilobacteriose genital bovina e tricomonose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.4, p. 336-344, 2011
- BALL, L.; DARGATZ, D.A.; CHENEY, J.M.; MORTIMER, R.G. Control of venereal disease in infected herds. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.3, n.3, p.561-574, nov, 1987.
- CASTRO, A.F.P.; 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, A.F.P.; GIORGI, W.; ROSA, C.A.S. Vibriose bovina no Estado de São Paulo. Isolamento de novas amostras de *Vibrio fetus* e pesquisa de aglutininas anti-*Vibrio fetus* no muco vaginal. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v.34, p.30-43, 1967.
- COSTA, E.A. Vibriose Bovina no Estado da Bahia, pesquisa de aglutininas anti – *Campylobacter fetus* no muco vaginal. **Biológico. IBB**. v.15, p. 14-18, 1976.
- DEKEYSER, P.J. Bovine Genital Campylobacteriosis. In: MORROW, D.A. (Ed.) **Current Therapy in Theriogenology**. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1986. p. 263-266.
- DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYEN, H. **Veterinary Epidemiologic Research**. Charlotte Town: AVC Inc., 2003. 474p.
- FERRAZ, J.B.S. Impacto econômico na pecuária de leite e corte do Brasil, com o aumento da utilização da inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.20, p.95-98, 1996.
- GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.; PICONE, A.B.B. Avaliação de dois métodos de coleta de muco prepucial no diagnóstico da Campilobacteriose Genital no touro. *Biol*, v.52, p. 7-11, 1986.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, v. 38, 2010, 65p. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 09/11/2011.

- JESUS, V.L. T.; TRÉS, J. E.; JACOB, J.C.F.; LATORRE, L.B.L.M; SANTOS JR, J.C.B. Campilobacteriose genital bovina: ocorrência nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.6, p.133-136, 1999.
- JESUS, V.L.T.; GABRIEL, A.M.A. Fatores que interferem na inseminação artificial: buscando soluções. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 22, n. 2, p. 6, 19-70, 1998.
- LAGE, A.P.; PELLEGRIN, A.O.; COSTA, G.M., et al. Campilobacteriose genital bovina: 21 anos de diagnóstico na Escola de Veterinária da UFMG. **Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, n. 2, p. 164-166, 1997.
- LEITE, Rômulo Cerqueira. **Avaliação de alguns métodos de diagnóstico e análise custo/benefício do controle da campilobacteriose bovina**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária UFMG, 1977, 38p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária da UFMG, 1977.
- MELICK, P.W.; WINTER, A.J.; MCENTEE, K. Diagnosis of vibriosis in the bull by the use of the fluorescent antibody technic. **The Cornell Veterinarian**, v.55, n.2, p. 280-294, 1963.
- MIES FILHO, A. Vibriose Bovina: Evolução de um foco no Rio Grande do Sul. **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária da UFRGS**, v. 6, p. 73-83. 1963.
- NASCIMENTO, M.G.F.; D'ANGELIS, F.H.F.; NASCIMENTO, E.R.; RESENDE, A.O. et al. Envolvimento de micoplasmas em vacas com distúrbios reprodutivos. *Acta Scientiae Vetererinar*, v.33, p.195-199, 2005.
- NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 2, p. 99-105, 1999.
- NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W.; ARTHUR, G.H. Specific infectious diseases causing infertility in cattle. In:_____. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. 8 ed., London: Saunders Elsevier, 2001. p. 473-509.
- OIE. Collection and processing of bovine, small ruminant and porcine semen. In: OIE. **Terrestrial Animal Health Code**. Paris, 2011. Disponível em: <www.oie.int>. Acesso em: 25/05/2011.
- PELLEGRIN, A.O.; LAGE, A.P.; SERENO. J.R.B., et al. Bovine genital campylobacteriosis in Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, v. 55, n. 3, p. 169-173, 2002.
- PELLEGRIN, A.O.; FIGUEIREDO, J.F.; LEITE, R.C., et al. **Imunofluorescência direta: um teste sensível e específico para o diagnóstico da campilobacteriose genital em touros**. Circular Técnica: Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 44, 2003. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT44.pdf>. Acesso em: 07/04/2011.
- RAMOS, A.; GUIDA, H.G. Aglutininas anti-*Campylobacter fetus* em mucos vaginais de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 2, p.715, 1978.

- ROCHA, F.S.; JESUS, V.L.T.; TORRES, H.M., et al. Investigação de *Campylobacter fetus* e *Tritrichomonas foetus* na mucosa prepucial de touros da região do Médio Paraíba, RJ. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1586-1589, 2009.
- RUCKERBAUER, G.M.; MALKIN, K.; MITCHELL, D.; BAULONGER, P. Vibriosis: demonstration of *Vibrio fetus* organisms in preputial fluid by immunofluorescence and culture techniques. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.38, p.321-327, 1974.
- SKIRROW, S.Z., Bon Durant, R. Bovine Trichomoniasis. **Veterinary Bulletin**, v.58, p.591-603, 1988.
- STOESSEL, F. **Las enfermedades venereas de los bovinos: Trichomoniasis y vibriosis genital**. Zaragoza: Acribia, 1982. 163 p.
- STYNEN, A.P.R.; PELLEGRIN, A.O.; FÓSCOLO, C.B., et al. Campilobacteriose genital bovina em rebanhos leiteiros com problemas reprodutivos da microrregião de Varginha – Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 766-769, 2003.
- WINTER, AJ, SAMUELSON, JD, ELKANA, M. A comparison of immunofluorescence and cultural techniques for demonstration of *Vibrios fetus*. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.150, n.8, p. 498-502, 1967.

CAPÍTULO 3

ESTUDO DA CAMPILOBACTERIOSE E TRICOMONOSE GENITAIS BOVINA EM REBANHOS DA RAÇA CURRALEIRO PÉ-DURO

1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a frequência da Campilobacteriose Genital Bovina (CGB) e da Tricomonose Genital Bovina (TGB) em criatórios da raça Curraleiro Pé-Duro no Distrito Federal e Goiás, visando determinar a situação dos rebanhos em relação às duas doenças e sugerir estratégias de prevenção e controle nas propriedades avaliadas. Foram coletados lavados prepuciais de 25 touros utilizados em regime de monta natural provenientes de sete propriedades diferentes. A detecção da CGB foi realizada por meio do exame de imunofluorescência direta (IFD) e o diagnóstico da TGB foi feito pelo cultivo do lavado prepucial em meio de Diamond. Nas sete propriedades, 289 fêmeas foram submetidas ao exame ginecológico e diagnóstico de gestação para obtenção de dados sobre a eficiência reprodutiva da raça e possíveis influências das doenças nesses índices. Os resultados evidenciaram a presença da CGB nos rebanhos de Curraleiro Pé-Duro, no entanto, não foi possível determinar a influência da enfermidade nos índices obtidos no presente estudo. TGB não foi detectada nos exames realizados. Sugestões de manejo, medidas de prevenção e controle foram revisadas e apresentadas na discussão do presente estudo.

Palavras-chave: *Campylobacter*, *Tritrichomonas*, Curraleiro Pé-Duro, Conservação, Recursos Genéticos.

2 ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the frequency of Bovine Genital Campylobacteriosis (BGC) and Bovine Genital Trichomoniasis (BGT) in Curraleiro Pé-Duro's herds in the Federal District and Goiás, to determine the status of herds about both disease and suggest strategies of prevention and control in the evaluated properties. Twenty-five preputial washes were collected from twenty-five bulls under natural mating from seven different properties. The detection of BGC was performed by direct immunofluorescence (DIF) and the diagnosis of BGT was made by culture of preputial washes in Diamond's medium. Two hundred and eighty-nine females, in the seven properties, were submitted to gynecological examination and diagnosis of pregnancy to obtain data on the reproductive efficiency of the breed and possible influences of disease in these rates. The results showed the presence of CGB in Curraleiro Pé-Duro's herds, however, it was not possible to determine the influence of disease in the rates obtained in this study. TGB was not detected in the tests performed. Suggestions for management, prevention and control measures were reviewed and presented in the discussion of this study.

Key-words: *Campylobacter*, *Tritrichomonas*, Curraleiro Pé-Duro, Conservation, Genetic Resources.

3 INTRODUÇÃO

A Campilobacteriose Genital Bovina (CGB) e a Tricomonose Genital Bovina (TGB) são doenças venéreas que causam falhas na concepção, caracterizando-se por apresentarem quadros de repetição de estro a intervalos irregulares, intervalos de partos prolongados, aumento da idade ao primeiro parto, morte embrionária, aborto e causam grandes perdas econômicas em decorrência desses problemas reprodutivos (Dekeyser, 1986; Pellegrin, 1999; BonDurant, 2005).

Os touros são portadores permanentes assintomáticos da bactéria *Campyobacter fetus* subsp. *venerealis* ou do protozoário *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*), não apresentam sinais clínicos das doenças e não desenvolvem imunidade contra seus agentes. Assim, o touro atua como vetor mecânico do agente e é a principal fonte de infecção no rebanho (Moyniham & Stovell, 1955; Noakes et al., 2001; Rae & Crews, 2006). Alguns dos fatores de risco considerados importantes para a manutenção e disseminação das doenças nos rebanhos são: a utilização de manejo reprodutivo com monta natural, sem estação de monta e sem avaliação andrológica e sanitária periódica dos touros, presença de touros com idade superior a cinco anos e a utilização de touros de repasse em propriedades que utilizam a inseminação artificial (IA. Pellegrin, 1999; Stynen et al., 2003; Rae & Crews, 2006).

As características epidemiológicas e clínicas, as alterações dos índices zootécnicos e as principais manifestações da infecção causada pelo *C. fetus* subsp. *venerealis* e pelo *T. foetus* são muito semelhantes, o que permite que vários aspectos das doenças e das estratégias de controle das infecções possam ser discutidos conjuntamente (Alves et al., 2011). Além disso, as características epidemiológicas das doenças, principalmente a transmissão venérea, fazem com que as doenças possam ser entendidas como doenças de rebanho e pelas características da infecção e transmissão dos touros, a presença de um macho infectado no

rebanho leva a classificação do rebanho ou lotes cobertos por esse touro como positivos para CGB e TGB (Pellegrin, 1999).

O gado Curraleiro Pé-Duro, descende dos bovinos trazidos pelos portugueses e espanhóis durante a colonização das Américas, os animais dessa raça são extremamente rústicos e bem adaptados à ambientes desfavoráveis como as chapadas semi-áridas do nordeste e o cerrado da região de Goiás e Tocantins (Mariante & Cavalcante, 2006; Fioravanti et al., 2008a). Apesar das características de adaptação das raças naturalizadas, elas sofreram um processo de substituição por cruzamentos absorventes com raças comerciais introduzidas no Brasil no início do século XX, principalmente animais zebuínos (*Bos taurus indicus*) o que quase causou o desaparecimento dessas raças (Mariante & Egito, 2002). Das cinco raças de bovinos naturalizadas, quatro encontram-se ameaçadas de extinção, entre elas está o Curraleiro Pé-Duro (Mariante et al., 2010; Fioravanti et al., 2011).

Atualmente, nos rebanhos de Curraleiro Pé-Duro, a venda de tourinhos e reprodutores é pequena e a reposição de reprodutores geralmente é realizada com animais do próprio plantel (Fioravanti et al., 2011) fatores que contribuem para o aumento da consanguinidade e consequente perda da variabilidade genética. Alguns estudos avaliaram o grau de endogamia de rebanhos de raças naturalizadas e demonstraram a perda de variabilidade genética por meio de cruzamentos consanguíneos (Almeida, 2008; Oliveira, 2008). Egito (2007) relatou índices de consanguinidade mais elevados para a raça Curraleiro Pé-Duro em comparação com outras quatro raças naturalizadas. Para evitar o desaparecimento e perda de variabilidade genética desse importante material genético a Embrapa e diversos parceiros tem atuado na conservação e pesquisa dessas raças.

Outras características desses animais são alta prolificidade e eficiência reprodutiva, habilidade materna, tamanho pequeno, tolerância ao calor e resistência natural às doenças e parasitas. Essas características podem ser importantes para a pecuária nacional, seja como opção pela raça para criação em ambientes desfavoráveis e sem tecnificação ou pela inserção de algumas dessas características em raças comerciais (Mariante et al., 2008; Fioravanti et al., 2008; McManus et al., 2009; Carvalho et al., 2010; Teixeira et al., 2011).

Apesar da importância das raças naturalizadas, os estudos sobre características fisiológicas, produtivas, reprodutivas e sanitárias dos rebanhos ainda são escassos, o conhecimento dessas e outras características das raças locais são importantes para o fortalecimento dos programas de conservação e da criação das raças. Não há estudos sobre a CGB e a TGB em criatórios de Curraleiro Pé-Duro e a possível influência na eficiência reprodutiva da raça.

O objetivo deste trabalho foi estudar a frequência de CGB e TGB em touros e avaliar o “status” reprodutivo das fêmeas em criatórios da raça Curraleiro Pé-Duro no centro-oeste, como parte de um projeto de implantação e avaliação de estratégias de manejo reprodutivo e sanitário em núcleos de conservação *in situ* de bovinos dessa raça visando conhecer a situação dos rebanhos em relação às duas doenças.

4 MATERIAL E METODOS

Foram coletados lavados prepuciais de 25 touros, em regime de monta anual, da raça Curraleiro Pé-Duro, com idade entre 3 e 15 anos, provenientes de sete propriedades localizadas Distrito Federal e no estado de Goiás (Tab. 3.1). As coletas foram realizadas entre junho e setembro de 2011 e não foram precedidas de repouso sexual. Os lavados foram coletados de acordo com Leite et al. (1995) em PBS (pH 7,4), 50 mL do lavado de cada animal foi adicionado ao meio de Diamond (Stoessel, 1982) e mantido protegido da luz à temperatura ambiente até e os 50 mL restantes foram armazenados sob refrigeração para o exame de CGB por imunofluorescência direta (IDF) e transportados para o Laboratório de Reprodução Animal da Universidade de Brasília.

Duzentos e oitenta e nove fêmeas (Tab. 3.1) em idade reprodutiva foram submetidas à avaliação ginecológica por meio de palpação retal e ultrassonografia para avaliação da condição reprodutiva (ciclicidade, patologias), diagnóstico de gestação e avaliação do escore corporal (1 a 5). As porcentagens de prenhez (PP) das propriedades positivas e negativas foram comparadas pelo teste do qui-quadrado com o grau de significância de $P \leq 0,05$.

Tabela 3.1 – Localização das propriedades com rebanhos da raça Curraleiro Pé-Duro, número de fêmeas submetidas ao exame ginecológico e touros coletados para diagnóstico de Campilobacteriose e Tricomonose.

Propriedades	Localidade/UF	Número de fêmeas avaliadas	Número de touros coletados
A	Monte Alegre de Goiás/GO	27	2
B	Campestre/GO	74	4
C	Planaltina/DF	30	3
D	Pilar de Goiás/GO	26	5
E	Água Fria de Goiás/GO	47	3
F	Mimoso de Goiás/GO	31	2
G	Pirenópolis/GO	54	6
Total	Sete propriedades	289	25

A imunofluorescência direta (IFD) para detecção de *Campylobacter fetus* foi realizada conforme as recomendações de Mellick et al. (1963) e Winter et al. (1967) no Laboratório de Reprodução Animal da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Os lavados foram submetidos a duas centrifugações a 10 °C: a primeira a 600g, por 10 min., obtendo-se um sobrenadante que foi então centrifugado a 13000g por 30 min. O sedimento da segunda centrifugação foi ressuspensionado em 1 a 3 mL de PBS (pH 7,4), homogeneizado e 20 µl da suspensão então colocados, em duplicata, nas demarcações da lâmina para imunofluorescência. As lâminas foram secas à temperatura ambiente, fixadas em acetona a -20 °C por 30 min. e enxaguadas por 3 vezes de 10 min. em PBS (pH 7,4). Após a fixação as lâminas foram cobertas com 20 µl de uma diluição de 1/128 de soro anti-*Campylobacter fetus* conjugado com fluoresceína. 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. cada lavagem, para a retirada do excesso de conjugado. Para a montagem das lâminas foi utilizada glicerina tamponada (pH 9,2) e o material coberto com lamínula. Cultivo de *C. fetus* subsp. *venerealis* ressuspensionado em PBS (pH 7,4) foi utilizado como controle positivo. As lâminas foram examinadas em microscópio de epifluorescência sob aumento de 1000x. Foram considerados positivos os lavados prepuciais que apresentaram bactérias fluorescentes com morfologia típica de *C. fetus*, ou seja, bastonetes espiralados em forma de “S”, vírgula ou asa de gaivota.

Os lavados adicionados ao meio de Diamond foram incubados a 37 °C por até 8 dias e amostras do cultivo foram examinadas diariamente sob aumento de 100x e 400x em microscópio de contraste de fase para detecção do crescimento de *T. foetus*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos rebanhos estudados o sistema de criação é extensivo e é utilizada a monta natural anual, ou seja, sem estação definida, o rebanho não é separado por categorias e permanece junto o ano inteiro. A assistência veterinária, quando realizada nas propriedades, atende somente rebanhos de outras raças, dessa forma, os Curraleiros Pé-Duro não são acompanhados por profissionais. Essas informações corroboram com o estudo de Fioravanti et al (2008b) no qual afirmaram que os animais de rebanhos dessa raça eram mantidos em

pastos nativos e matas de cerrado, a primeira cobertura ocorria entre 2 e 2,5 anos de idade e o primeiro parto entre 3 e 3,5 anos. No entanto, as informações sobre os índices produtivos e reprodutivos foram observacionais e por isso, imprecisas. Situação semelhante foi observada nas propriedades consideradas nesse estudo, nas quais não há escrituração zootécnica, identificação individual dos animais ou acompanhamento reprodutivo, nenhum índice zootécnico é registrado o que dificulta a avaliação do potencial produtivo, reprodutivo e econômico da criação da raça, assim como a investigação da influência do “status” sanitário nos índices desses rebanhos.

Os resultados dos diagnósticos de gestação realizados nas propriedades são apresentados na tabela 3.2, a porcentagem de prenhez (PP) total (64,36%) apresenta valores numericamente acima do valor da média nacional de fertilidade de 50%, expressa em porcentagem de matrizes prenhes/matrizes totais/ano (Jesus & Gabriel, 1998; Ferraz, 1996).

Tabela 3.2 – Resultado do diagnóstico de gestação (DG) e porcentagem de prenhez dos criatórios de animais da raça Curraleiro Pé-Duro

Propriedades	Total de fêmeas examinadas (n)	Diagnóstico de gestação positivo (n)	Diagnóstico de gestação negativo (n)	Prenhez (%)
A	27	14	13	51,85
B ⁺	74	57	17	77,03
C	30	20	10	66,67
D	26	22	4	84,62
E ⁺	47	26	21	55,32
F	31	19	12	61,29
G	54	28	26	51,85
Total	289	186	103	64,36

⁺ Propriedades positivas no exame de imunofluorescência direta para *Campilobacteriose Genital Bovina*

Neves et al. (1999) relataram a taxa de fertilidade nacional tomando como base dados do Censo Agropecuário 1994-1995 do IBGE em 60,4% e 57,9% para a região Centro-oeste, valores expressos em porcentagem de bezerros até um ano/vacas, utilizando o mesmo princípio estimamos a taxa de parição com dados do Censo Agropecuário 2006 (IBGE, 2006) e obteve-se a taxa nacional de 67,28% e 65,43% na região Centro-oeste. Assim pode-se observar que os valores nacionais e do Centro-Oeste aumentaram em relação aos valores do Censo 1994-1995, no entanto a região Centro-Oeste continua abaixo da taxa nacional mesmo possuindo a maior parte do efetivo bovino do país (IBGE, 2006; IBGE, 2010). A PP total das fazendas deste estudo está próximo aos valores estimados acima, no entanto esta comparação deve ser utilizada apenas como referência, uma vez que, pelos dados disponíveis, as estimativas foram feitas a partir do número de bezerros com menos de um ano e não com vacas prenhes não permitindo, portanto, inferências na comparação entre as taxas.

A PP dos rebanhos positivos não foi diferente dos resultados do diagnóstico de gestação nas propriedades negativas. O índice reprodutivo de um rebanho é influenciado por diversos fatores, dentre os quais podemos destacar a nutrição, o patrimônio genético dos animais, o estado sanitário do rebanho, a fertilidade dos touros e os fatores ambientais como temperatura e índice pluviométrico (Ferraz, 1996; Jesus & Gabriel, 1998; Neves et al., 1999; Moraes et al., 2005; Sartori & Guardieiro, 2010). Desta forma, pela influencia multifatorial nesses índices, é possível que os efeitos da positividade para CGB não seja demonstrada de forma clara somente por meio da PP, uma vez que a propriedade positiva B apresentou PP de 77,03%, segundo melhor resultado entre as fazendas. Possivelmente os resultados observados nas propriedades são mais influenciados por outros fatores como a condição nutricional, do que a presença da doença no rebanho.

A inexistência de dados pregressos dos rebanhos não permitiu a avaliação dos efeitos da CGB nos índices produtivos e reprodutivos dos rebanhos estudados, uma vez que a doença é caracterizada por aumento no intervalo de partos e repetição de estro (Dekeyser, 1986; BonDurant, 2005). Além disso, o curso da doença no rebanho pode contribuir para dificuldade de observação dos efeitos da CGB, uma vez que após a introdução da doença no rebanho ocorre uma redução dramática na taxa de gestação e o primeiro sinal observado é o aumento no número de fêmeas que retornam ao estro em intervalos regulares ou irregulares. No entanto, eventualmente, após passar por graves problemas de infertilidade, por volta de seis meses depois, o rebanho gradualmente vai se tornando imune à *C. fetus* subsp. *venerealis* e com a manutenção do touro positivo no rebanho, algumas vacas podem ser reinfetadas, no entanto a recorrência é menos severa e, eventualmente, depois de dois ou três anos a fertilidade das vacas retorna a índices aceitáveis e casos eventuais de infertilidade podem ocorrer (Noakes et al., 2001)

As novilhas e as vacas mais velhas são os grupos mais suscetíveis (Dekeyser, 1984; Jimenez et al., 2011), nas novilhas os sintomas são mais pronunciados, mais de 75% retornam ao estro, geralmente com prolongamento do ciclo (Dekeyser, 1986), apenas a propriedade A tinha o controle da idade alguns animais, assim, nas propriedades positivas não foi possível calcular a porcentagem de prenhez no grupo de novilhas, pois essa informação não era precisa.

Dos 25 touros amostrados nas sete propriedades, dois animais (8%) foram positivos para CGB ao exame de IFD, cada animal proveniente de propriedades diferentes, frequência de propriedades positivas de 28,6% (propriedades B e E). *Tritrichomonas foetus* não foi observado nas amostras coletadas. Devido às características das doenças de transmissão

venérea, os touros são os animais mais indicados para pesquisa dos agentes, além de estarem em menor número no rebanho e serem portadores assintomáticos. A característica auto-limitante da CGB e da TGB em fêmeas torna difícil o isolamento e identificação de *C. fetus* subsp. *venerealis* e de *T. foetus* (BonDurant, 2005). O método de IFD utilizado no diagnóstico da CGB no presente estudo é considerado um método fácil e de baixo custo, eficiente na detecção de touros portadores e bastante útil em casos nos quais a distância entre o local de coleta e o laboratório é longa, o que torna o cultivo pouco eficiente (Pellegrin et al., 1998; Figueiredo et al., 2002) e tem sido o método utilizado em trabalhos recentes (Pellegrin et al., 2002; Stynen et al., 2003; Rocha et al., 2009; Leal et al., 2011).

Para obter maior sensibilidade na IFD são recomendadas três coletas consecutivas com intervalos de 7 a 14 dias, precedidas de repouso sexual mínimo de 5 dias (Noakes et al., 2001; Pellegrin et al., 2003). Para transações comerciais e ingresso em centrais de coleta de sêmen, a OIE recomenda o resultado negativo em três testes consecutivos para que os animais sejam declarados livres da infecção (OIE, 2011), já o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio da Instrução Normativa Nº 8, de 10 de março de 2006 (Brasil, 2006), indica a realização de 4 provas negativas de cultivo de material prepucial com intervalo de 7 dias ou uma prova de IFD na quarentena para ingresso em Centro de Coleta e Processamento de Sêmen. No presente estudo não foi realizado o repouso sexual prévio e por razões logísticas foi realizada apenas uma coleta. Desta forma a frequência encontrada poderia ter sido superior se os animais fossem coletados conforme as recomendações supracitadas encontradas na maior parte das bibliografias consultadas.

Miranda (2005) estimou a prevalência de rebanhos e de animais com infecção por *C. fetus* nos principais estados produtores do país, entre eles os estados do Centro-Oeste: Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás. A prevalência de rebanho e de animais foi de 50,8% e 19,7%, respectivamente, em todos os estados avaliados e de 66,7% e 26,1% na região Centro-Oeste. O presente estudo detectou frequência de rebanhos positivos de 28,6% e 8% de animais portadores nos criatórios de Curraleiros Pé-Duro investigados, números aparentemente menores que os do trabalho anterior, no entanto, esses números não podem ser diretamente comparados. Os dois estudos utilizaram IFD no diagnóstico da CGB e amostram apenas touros, no entanto, o espaço amostral do presente estudo não permite extrapolações do resultado, dessa forma qualquer conclusão obtida a partir da comparação direta entre os resultados pode conduzir a erros.

Rocha et al. (2009) relataram a ocorrência de CGB em 35,9% dos 39 touros avaliados em nove propriedades, na região do Médio Paraíba (RJ), frequência maior do que a

encontrada em touros de rebanhos do presente estudo, no estado de Goiás e Distrito Federal, no entanto, é importante ressaltar que aquele estudo amostrou animais em propriedades com histórico de problemas reprodutivos tais como altas taxas de retorno ao cio, abortos e aumento do intervalo de partos.

A média de idade dos touros examinados foi de 6,2 anos ($\pm 2,9$), sendo que alguns animais tiveram a idade estimada pela cronologia dentária, outros por informações dos tratadores e poucos apresentavam marca do mês e ano de nascimento. O animal mais velho tinha 15 anos e o mais novo 3 anos, os dois animais positivos tinham mais de cinco anos (5 e 15), o que confirma a suscetibilidade de animais mais velhos tornarem-se portadores permanentes devido às características morfológicas do epitélio prepucial (Hoffer, 1981; Dekeyser, 1986).

As doenças que afetam a reprodução têm seus efeitos deletérios largamente comprovados nos índices de fertilidade dos rebanhos acometidos e podem ter efeitos graves em pequenas populações de raças ameaçadas, podendo levar à extinção do ecótipo (Pellegrin et al., 1997). Considerando as condições dos rebanhos estudados e a presença da CGB em alguns criatórios foram propostas algumas técnicas de manejo e controle da CGB.

A eficiência reprodutiva dos rebanhos depende mais do conhecimento e do bom gerenciamento dos diversos fatores envolvidos no sistema de produção do que elevados investimentos (Valle et al., 1998). Para tanto, um dos fatores necessários é o controle do rebanho por meio de registros periódicos das atividades a fim de se obter os índices zootécnicos da propriedade. De acordo com Valle et al. (1998), as diversas alternativas de manejo têm como objetivo principal a otimização do desempenho reprodutivo e produtivo do rebanho de cria, de forma racional, econômica e sem promover a degradação ambiental. Para tanto, o enfoque deve estar voltado à prevenção de doenças, ao atendimento das exigências nutricionais nas diversas fases da vida reprodutiva e à exploração do potencial genético dos animais.

6 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo indicam a presença da infecção por *C. fetus* subsp. *venerealis* em rebanhos de bovinos Curraleiros Pé-Duro, além da caracterização inicial da

eficiência reprodutiva desses animais por meio da PP. Com esses dados foi possível a avaliação inicial do “status” geral do rebanho e a proposição de técnicas de manejo e gerenciamento para otimizar a produção e reprodução dos rebanhos.

Considerando os resultados obtidos, recomenda-se a aplicação de métodos de controle para CGB, principalmente por meio de levantamentos anuais e descarte de touros positivos. A aplicação dessas ferramentas propostas visa auxiliar o desenvolvimento sanitário, produtivo e reprodutivo desses rebanhos, reduzir da taxa de endogamia e contribuir diretamente para a conservação *in situ* dessa raça.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, Glícia Maria de. **Caracterização genética da raça pé-duro utilizando microssatélites ancorados**. Teresina: Universidade Federal do Piauí, 2008. 92p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, 2008.
- ALVES, T.M.; STYNEN, A.P.R.; MIRANDA, K.L.; LAGE, A.P. Campilobacteriose genital bovina e Tricomonose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 336-344, 2011.
- BONDURANT, R.H. Venereal diseases of cattle: natural history, diagnosis, and the Role of vaccines in their control. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 21, p. 383-408, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 8, de 10 de março de 2006**. Diário Oficial da União, Brasília, 15 de março de 2006, sec. 1, p. 26, Anexo I.
- CAMPERO, C.M.; GOTTSTEIN, B. Control Measures: Tritrichomonosis. In: ORTEGA-MORA. L.M.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F.J.; BUXTON, D. (Eds) **Protozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for Diagnosis and Control**. United States: CABI publishing, 2007, p. 232-262.
- CARVALHO, G.M.C.; ALMEIDA, M.J.O.; AZAVÊDO, D.M.M.R., et al. **Origem, formação e conservação do gado Pé-duro, o bovino do Nordeste brasileiro**. Documentos Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI, n. 208, 2010. Disponível em: <<http://www.cpamn.embrapa.br/publicacoes/documentos/2010>>. Acesso em: 30/10/2011.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2 ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.
- DEKEYSER, P.J. Bovine Genital Campylobacteriosis. In: BUTZLER, J.P. (Ed.) **Campylobacter Infection in Man and Animals**, Florida: CRC Press, 1984. p. 181-191.
- DEKEYSER, P.J. Bovine Genital Campylobacteriosis. In: MORROW, D.A. **Current Therapy in Theriogenology**. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1986. p. 263-266.

- EGITO, Andréa Alves do. **Diversidade genética, ancestralidade individual e miscigenação nas raças bovinas no Brasil com base em microssatélites e haplotipos de dna mitocondrial: subsídios para a conservação.** Brasília: Departamento de Biologia Celular da Universidade de Brasília, 2007. 246p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, 2007.
- FERRAZ, J.B.S. Impacto econômico na pecuária de leite e corte no Brasil, com o aumento da utilização da inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 20, n. 3/4, p. 77-132, 1996.
- FIGUEIREDO, J.F.; PELLEGRIN, A.O.; FÓSCOLO, C.B., et al. Evaluation of direct fluorescent antibody test for the diagnosis of bovine genital campylobacteriosis. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 44, n. 3-4, p. 118-123, 2002.
- FIORAVANTI, M.C.S.; JULIANO, R.S.; COSTA, G.L., et al. Características dos criatórios de bovinos da raça Curraleiro nos estados de Goiás e Tocantins. In: IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais, 9, 2, 2008b, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa Cerrados, 2008. Disponível em: <http://simposio.cpac.embrapa.br/simposio_pc210/inicio.pdf> Acesso em: 26/10/2011.
- FIORAVANTI, M.C.S.; JULIANO, R.S.; COSTA, G.L., et al. Conservación del bovino Curraleiro: cuatificación y caracterización de los criadores. **Animal Genetic Resources**, 48, p. 109-116, 2011.
- FIORAVANTI, M.C.S.; SERENO, J.R.B.; GOMES, A.C., et al. Reintrodução do gado Curraleiro na comunidade quilombola Kalunga de Cavalcate, Goiás, Brasil: Resultados parciais. In: IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais, 9, 2, 2008a, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa Cerrados, 2008. Disponível em: <http://simposio.cpac.embrapa.br/simposio_pc210/inicio.pdf> Acesso em: 26/10/2011.
- FOX, E.W.; HOBBS, D.; STINSON, J.; ROGERS, G.M. A preliminary survey of North Carolina slaughterhouse bulls for *Tritrichomonas foetus*. **Bovine Practitioner**, n. 29, p. 153-155, 1995.
- HALL, R.; GILLIAM, J.; STEP, D.L. Bovine Trichomoniasis. **Division of Agricultural Sciences and Natural Resources – Oklahoma State University**, 2010, 2p. Disponível em <<http://osufacts.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-7271/VTMD-9134pod.pdf>> Acesso em: 18/09/2011.
- HOFFER, M.A. Bovine Campylobacteriosis: A Review. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 22, n. 11, p. 327-330, 1981.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Censo Agropecuário.** Rio de Janeiro: IBGE, 2006, 777p. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 09/11/2011.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção da Pecuária Municipal.** Rio de Janeiro: IBGE, v. 38, 2010, 65p. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 09/11/2011.

- JESUS, V.L.T.; GABRIEL, A.M.A. Fatores que interferem na inseminação artificial: buscando soluções. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 22, n. 2, p. 6, 19-70, 1998.
- JIMENEZ, D.F.; PEREZ, A.M.; CARPENTER, T.E.; MARTINEZ, A. Factors associated with infection by *Campylobacter fetus* in beef herds in the province of Buenos Aires, Argentina. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 101, p. 157-162, 2011.
- LEAL, D.R.; FERNANDES, G.O.; GOUVEIA, F.F., et al. Estudo da Campilobacteriose Genital Bovina e Tricomonose Bovina no Distrito Federal e entorno. In: XIX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 19. 2011, Recife. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p. 171, 2011. CD-rom.
- LEITE, R.C.; HADDAD, J.P.; COSTA, G.M., et al. Técnica modificada para coleta de lavado prepucial de touros, para exame de trichomonose e ou campilobacteriose. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, p. 434, 1995.
- MARIANTE, A.S.; CAVALCANTE, N. **Animais do descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. 2 ed. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; 2006.
- MARIANTE, A.S.; EGITO, A.A. Animal genetic resources in Brazil: result of Five centuries of natural selection. **Theriogenology**, v. 57, p. 223-253, 2002.
- MARIANTE, A.S.; EGITO, A.A.; ALBUQUERQUE, M.S.M., et al. Managing genetic diversity and society needs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37 (suplemento), P. 127-136, 2008.
- MARIANTE, A.S.; MCMANUS, C.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; PAIVA, S.R. Utilization of animal genetic resources in Brazil: results of a 28-year conservation program. In: IX Conference on Genetics Applied to Animal Production, 9, 2010, Leipzig, Alemanha. **Proceedings of the IX Conference on Genetics Applied to Animal Production**. Leipzig, Alemanha, 2010.
- MCMANUS, C.; PRESCOTT, E.; PALLUDO, G.R., et al. Heat tolerance in naturalized Brazilian cattle breeds. **Livestock Science**, v. 120, p. 256-264, 2009.
- MELICK, P.W.; WINTER, A.J.; MCENTEE, K. Diagnosis of vibriosis in the bull by the use of the fluorescent antibody technic. **The Cornell Veterinarian**, v.55, n.2, p. 280-294, 1963.
- MIRANDA, Karina Leite. **Prevalência da infecção por *Campylobacter fetus* em bovinos de corte no Brasil em 2000**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária UFMG, 2005, 47p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Escola de Veterinária da UFMG, 2005.
- MORAES, J.C.F.; JAUME, C.M.; SOUZA, C.J.H. **Controle da reprodução em bovinos de corte**. Comunicado Técnico Embrapa Pecuária Sul, Bagé-SC, n. 58, 2005. Disponível em: <<http://www.cppsul.embrapa.br/unidade/publicacoes/download/134>> Acesso em: 24/11/2011.
- MORGAN, B. B. **Bovine Trichomoniasis**. Mineapolis: Burgess Publishing Co.; 1944a. 150p.

- MOYNIHAN, I.W.M.; STOVELL, P.L. Vibriosis in cattle. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 19, n. 4, 1955.
- NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 2, p. 99-105, 1999.
- NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W.; ARTHUR, G.H. Specific infectious diseases causing infertility in cattle. In:_____. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. 8 ed., London: Saunders Elsevier, 2001. p. 473-509.
- OIE. Collection and processing of bovine, small ruminant and porcine semen. In: OIE. **Terrestrial Animal Health Code**. Paris, 2011. Disponível em: <www.oie.int>. Acesso em: 25/05/2011.
- OLIVEIRA, Ana Paula Ferreira. **Caracterização genética de uma população de gado crioulo Pé-duro do Piauí, através de marcadores microssatélites**. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, 2008. 112p. Tese (Doutorado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto USP, 2008.
- PELLEGRIN, A.O. A campilobacteriose e a tricomonose são doenças reemergentes? **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 4, p. 523-531, 1999.
- PELLEGRIN, A.O.; LAGE, A.P.; SERENO, J.R.B., et al. Bovine genital campylobacteriosis in Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, v. 55, n. 3, p. 169-173, 2002.
- PELLEGRIN, A.O.; LEITE, R.C. **Atualização Sobre Tricomonose Genital Bovina**. Documentos Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 54, 2003. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC54.pdf>>. Acesso em: 15/07/2010.
- PELLEGRIN, A.O.; SERENO, J.R.B.; LEITE, R.C., et al. Campilobacteriose genital bovina em touros do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 22, n. 1, p. 43-47, 1998.
- PELLEGRIN, A.O.; SERENO, J.R.B.; MAZZA, M.C.M., et al. **Doenças da reprodução e conservação genética: levantamento do núcleo de conservação do bovino Pantaneiro**. Comunicado Técnico Embrapa Pantanal, Corumbá-MS, n. 21, 1997. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/COT21.pdf>> Acesso em: 23/11/2011.
- PETER, D. Bovine Venereal Diseases. In: YOUNGQUIST, R.S. (Ed.) **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. 1 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1997, p. 355-363.
- RAE, D.O.; CREWS, J. E. *Tritrichomonas foetus*. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 22, p. 595-611, 2006.
- ROCHA, F.S.; JESUS, V.L.T.; TORRES, H.M., et al. Investigação de *Campylobacter fetus* e *Tritrichomonas foetus* na mucosa prepucial de touros da região do Médio Paraíba, RJ. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1586-1589, 2009.
- SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M.M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmeas bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 422-432, 2010

- STOESSEL, F. **Las enfermedades venereas de los bovinos: Trichomoniasis y vibriosis genital.** Zaragoza: Acribia, 1982. 163 p.
- STYNEN, A.P.R.; PELLEGRIN, A.O.; FÓSCOLO, C.B., et al. Campilobacteriose genital bovina em rebanhos leiteiros com problemas reprodutivos da microrregião de Varginha – Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 766-769, 2003.
- TEIXEIRA, H.C.A.; NASCIMENTO, N.V.; MCMANUS, C., et al. Seasonal influence on semen traits and freezability from locally adapted Curraleiro bulls. **Animal Reproduction Science**, v. 125, p. 56-61, 2011.
- VALLE, E.R.; ANDREOTTI, R.; THIAGO, R.L.R.S. **Estratégias para aumento da eficiência reprodutiva e produtiva em gado de corte.** Documentos Embrapa CNPGC, Campo Grande-MS, n. 71, 1998, 90p. Disponível em: <http://www.cnpdc.embrapa.br/publicacoes/doc/doc_pdf/DOC071.pdf> Acesso em: 09/11/2011.
- WINTER, AJ, SAMUELSON, JD, ELKANA, M. A comparison of immunofluorescence and cultural techniques for demonstration of Vibrios fetus. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.150, n.8, p. 498-502, 1967.
- YAEGER, M.J.; HOLLER, L.D. Bacterial Causes of Bovine Infertility and Abortion. In: YOUNGQUIST, R.S.; THRELFALL, W.R. (Eds.) **Current Therapy in Large Animal Theriogenology.** Missouri: Saunders Elsevier, 2007, p. 389-399.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Diversos fatores influem na viabilidade, produtividade e lucratividade da pecuária bovina, o conhecimento de técnicas adequadas de administração e manejo dos rebanhos aliado ao acompanhamento profissional de qualidade pode contribuir para o sucesso da atividade, neste contexto, o conhecimento do Médico Veterinário quanto às doenças reprodutivas, medidas de prevenção e controle são importantes para que a assistência seja prestada de maneira adequada e eficiente.

A Campilobacteriose e a Tricomonose são duas doenças importantes no cenário da pecuária mundial, no entanto não despertam o interesse de criadores, técnicos ou grupos de pesquisa, os quais podem até conhecer essas enfermidades, mas desconhecem os prejuízos causados pela introdução ou manutenção desses agentes em rebanhos bovinos, até mesmo pela falta de estudos nacionais que demonstrem esses prejuízos.

Os estudos aqui apresentados demonstraram a presença da Campilobacteriose em rebanhos no Distrito Federal e Goiás, assim a pesquisa dessa doença torna-se importante para determinar a sua influência nos rebanhos afetados, além de poder subsidiar a divulgação e implantação de medidas de prevenção e controle a fim de contribuir para a otimização da produção pecuária nacional. A ausência de resultados positivos para Tricomonose conduz à discussão sobre a metodologia utilizada para o diagnóstico e a necessidade de investimentos no aperfeiçoamento dos métodos diagnósticos ou o desenvolvimento de novas metodologias.

Os resultados apresentados mantêm a discussão sobre a real importância dessas doenças nos rebanhos brasileiros e apresentam a necessidade do desenvolvimento de pesquisas nessa área para que sejam geradas informações atuais sobre as condições dos rebanhos brasileiros frente às duas doenças e suas possíveis influências na produtividade e rentabilidade da bovinocultura brasileira para que possibilitem o desenvolvimento e a aplicação de medidas preventivas e de controle das CGB e da TGB.