

LEPTOSPIROSE E TRITRICHOMONOSE: ISOLAMENTO EM PROPRIEDADE COM PROBLEMAS REPRODUTIVOS NO SUL DO BRASIL

Aleksandro Schafer da Silva¹
 Régis Adriel Zanette¹
 Camila Belmonte Oliveira¹
 Miguel Gallio²
 Patrique de Lima Pereira²
 Mariana Bertini Fernandes³
 Alexandre Alberto Tonin²
 Manoel Renato Teles Badke⁴
 Silvia Gonzalez Monteiro⁴

SILVA¹, A. S., ZANETTE¹, R. A.; OLIVEIRA¹, C. B.; GALLIO², M.; PEREIRA², P. L.; FERNANDES³, M. B.; TONIN², A. A.; BADKE⁴, M. R. T.; MONTEIRO⁴, S. G. Leptospirose e tritricomonose: isolamento em propriedade com problemas reprodutivos no sul do Brasil. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar*, Umuarama, v. 12, n. 1, p. 87-90, jan./jun. 2009.

RESUMO: O objetivo do estudo foi pesquisar quais os agentes etiológicos presentes em touros de duas propriedades rurais com elevados índices de repetição de cio. Da propriedade A foram analisados 23 touros, dos 58 integrados no rebanho, e na propriedade B foram analisados 15 reprodutores. Destes animais, foi colhido sangue para exame de leptospirose e realizado lavado prepucial para cultura de tritricomonose. Na propriedade A, em nenhuma das amostras avaliadas isolou-se trofozoítas de *Tritrichomonas foetus*. No soro de 15 touros (65,2%) testados para *Leptospira* foi verificada reação para um ou mais sorovares de *L. hardjo*, *L. wolffi*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. butembo*, em titulações que oscilaram entre 1/100 e 1/400. Na propriedade B não foi verificada titulação para leptospirose, mas em um dos animais isolaram e reproduziram trofozoítas de *T. foetus* em laboratório. Do restante dos animais, cinco foram considerados suspeitos em microscópico óptico, não sendo confirmado o parasitismo em lâmina corada com Giemsa. Todos os bovinos da propriedade A foram submetidos ao tratamento com sulfato de estreptomicina em dose única de 25mg kg⁻¹. O animal positivo para *T. foetus* foi descartado e os demais estão sendo monitorados mensalmente. Tanto Leptospirose como tritricomonose são enfermidades capazes de acarretar problemas reprodutivos em bovinos no sul do Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: *Tritrichomonas foetus*. *Leptospira*. Bovinos.

LEPTOSPIROSIS AND TRITRICHOMONOSIS: PROPERTY IN ISOLATION WITH REPRODUCTIVE PROBLEMS IN SOUTHERN BRAZIL

ABSTRACT: The aim of this study was to research the etiological agents present in bulls from a property with high estrus repetition rate. Twenty three out of 58 bulls in the property A and 15 of the property B were analyzed. Blood samples and preputial washes for leptospirosis and tritrichomonosis research were collected, respectively. In the property A, none of the evaluated animals showed the presence of *Tritrichomonas foetus* trophozoites, although 15 bulls (65,2%) tested for *Leptospira* reacted with one or more sorovars of *L. hardjo*, *L. wolffi*, *L. icterohaemorrhagiae* and *L. butembo* with titles between 100 and 400. Animals from property B were negative for leptospirosis and the isolation and reproduction of *T. foetus* in laboratory was possible only in one animal. Five other animals were considered suspect in the direct smear technique, although they were negative in the Giemsa staining method. All animals from property A received a single dose of streptomycin sulfate (25mg kg⁻¹) which drastically reduced the estrus repetition rate. The animal with tritrichomonosis was taken out of the herd and the others have been monitored monthly. Even leptospirosis as tritrichomonosis are diseases directly linked with reproductive problems in southern Brazil.

KEYWORDS: *Tritrichomonas foetu*. *Leptospira*. Bovine.

LEPTOSPIROSIS Y TRITRICHOMONOSIS: AISLAMIENTO EN PROPIEDAD CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS EN EL SUR DE BRASIL

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue investigar cuales son los agentes etiológicos presentes en toros de dos propiedades rurales con elevados índices repetitivos de celo. De la propiedad "A" fueron analizados 23 toros, de los 58 que integran

¹Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria – RS, Brasil.

²Curso de Medicina Veterinária da UFSM. Santa Maria – RS, Brasil.

³Médico Veterinário autônomo, Jaboticabal – SP, Brasil.

⁴Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFSM. Faixa de Camobi - Km 9, Campus Universitário, Santa Maria – RS, Brasil. 97105-900, Prédio 20, Sala 4232. Fax: (55) 3220-8958. Autor para correspondência: sgmonteiro@uol.com.br

el rebaño, en la propiedad "B" fueron analizados 15 reproductores. De estos animales, se extrajo muestras de sangre para examen de leptospirosis y se realizó lavado prepucial para cultivo de tritricomonosis. En la propiedad "A", en ninguna de las muestras evaluadas se aisló trofozoítos de *Tritrichomonas foetus*, ya en el suero de 15 toros (65,2%) testeados para *Leptospira* fue verificada reacción para uno o más sorovares de *L. hardjo*, *L. wolffi*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. butembo* en titulaciones que oscilaron entre 1/100 y 1/400. En la propiedad "B" no fue verificada titulación para leptospirosis, pero en uno de los animales se aisló y se reprodujeron trofozoítos de *T. foetus* en laboratorio. En los demás animales, cinco fueron considerados sospechosos en microscopio óptico, no siendo confirmado el parasitismo en lámina coloreada con Giemsa. Todos los bovinos de la propiedad A fueron sometidos al tratamiento con sulfato de estreptomycin en dosis única de 25mg kg⁻¹. El animal positivo para *T. foetus* fue descartado y los demás están siendo monitoreados mensualmente. Tanto Leptospirosis como tritricomonosis son enfermedades capaces de provocar problemas reproductivos en bovinos en el sur de Brasil.

PALABRAS CLAVE: *Tritrichomonas foetus*. *Leptospira*. Bovinos.

Introdução

No Brasil, a pecuária ainda é muito dependente da monta natural como método de reprodução, em vista da facilidade que este método traz ao produtor e devido à inseminação artificial ser de difícil realização em grandes rebanhos pela falta de mão de obra especializada e inexistência de infraestrutura adequada (GOMES et al., 1991; EMBRAPA, 1997). As perdas econômicas produzidas pela leptospirose e tritricomonose estão direta ou indiretamente relacionadas a custos com assistência veterinária, medicamentos, vacinas, testes laboratoriais, falhas reprodutivas e aborto (EMBRAPA, 1997; FAINE, 1999).

A tritricomonose bovina é uma doença contagiosa causada pelo agente *Tritrichomonas foetus*, que pode ocasionar perda embrionária precoce, infertilidade temporária, abortos, repetição de cio e piometra. A vaca infectada recupera-se espontaneamente durante um período de repouso sexual acima de 90 dias. Desta forma, é importante a identificação dos touros contaminados através de exame laboratorial, para que se possa selecionar animais livres desta doença para a estação de reprodução (LEITE et al., 1997).

Bactérias do gênero *Leptospira* possuem diversos sorovares patogênicos para os homens e animais (LEVETT, 2001). Em bovinos, o sorovar *hardjo* é o mais importante, porque compromete o desempenho reprodutivo dos rebanhos acometidos, causando abortamento, natimortalidade e nascimento de bezerros fracos (LILENBAUM, 1996). A ocorrência de infecções incidentais, causadas por sorovares que não são mantidos nos bovinos, como *australis*, *bratislava*, *butembo*, *castellonis*, *grippotyphosa*, *copenhageni*, *panama*, *pyrogenes*, *shermani*, *andamana* e *patoc*, deve-se ao contágio indireto, pois animais mantidos a pasto, têm acesso livre a lagoas, banhados e matas ciliares, onde existem animais silvestres e roedores que podem atuar como portadores e transmissores destes sorovares para os bovinos (LILENBAUM, 1996).

A identificação de enfermidades responsáveis por perdas reprodutivas nas propriedades é de fundamental importância para o planejamento de uma conduta de tratamento ou substituição de animais positivos para a estação de monta. Visto isto, este estudo tem o objetivo de pesquisar quais os agentes etiológicos presentes em touros de propriedades rurais com elevados índices de repetição de cio.

Material e Métodos

Os touros avaliados foram oriundos de duas propriedades produtoras de gado de corte, onde se utiliza a monta

natural controlada na reprodução, na região noroeste e central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As propriedades foram escolhidas devido ao elevado índice de repetição de cio. Na propriedade A, localizada no município de Antonio Prado, 23 touros (40% dos machos do rebanho) foram avaliados. Na propriedade B, em Caçapava do Sul, todos os touros foram examinados (15 animais). Em ambas as fazendas, os reprodutores eram da raça Angus, com idade entre três e oito anos, submetidos à monta natural controlada e coleta de sêmen para inseminação artificial nas próprias fazendas. Neste estudo foi coletado sangue e realizado lavado prepucial. As amostras foram coletadas após um descanso sexual de no mínimo 30 dias, para possibilitar a multiplicação do *Tritrichomonas* e facilitar o seu isolamento.

As amostras de lavado prepucial foram colhidas e armazenadas em meio de Rieck modificado, mantidos em temperatura de 27°C desde sua chegada até o momento da análise, que foi realizada no dia zero, cinco e dez após a coleta (GUIDA et al., 1960). De cada animal foram coletadas duas amostras de lavado prepucial em intervalo de 20 dias. A confirmação do diagnóstico por *Tritrichomonas* foi realizada por esfregaço em lâmina do meio de cultura e corado com Giemsa. O sangue foi coletado da veia jugular, conservado em tubos de ensaio e conduzidos ao Laboratório de Leptospirose da Universidade Federal de Santa Maria - RS. O sangue foi centrifugado e o soro submetido posteriormente à diluição de 1/100 com solução de Sorensen, sendo testado com oito sorovares de *Leptospira*. Os soros que reagiram na diluição 1/100 foram considerados positivos, sendo então diluídos para determinar o título final. Os sorovares utilizados foram *L. hardjo*, *L. wolffi*, *L. grippotyphosa*, *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. bratislava*, *L. pomona* e *L. butembo*. A técnica utilizada foi a soroaglutinação microscópica (SAM), que é recomendada pela Organização Mundial de Saúde (BRASIL, 1995; GALTON et al., 1965).

Resultados e Discussão

Na propriedade A verificou-se que 65,2% dos touros avaliados apresentavam-se positivos para um ou mais sorovares de *Leptospira* em titulações que oscilaram entre 1/100 e 1/400. Entre eles, *L. hardjo*, *L. wolffi*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. butembo* (Tabela 1). Na propriedade B, nenhuma amostra de soro reagiu para *Leptospira*. No Estado de Santa Catarina, em propriedades com problemas reprodutivos de repetição de cio, identificou-se que 54,07% das fêmeas avaliadas apresentaram-se reagentes para um ou mais sorovares de *Leptospira* em titulações que oscilaram entre 1/100 e 1/800 (CAVAZINI et al., 2008). Outros trabalhos apresenta-

ram prevalência semelhante ao deste estudo, sendo relatado por Aguiar et al. (2006) em municípios de Rondônia, Fujii et al. (2001) em São Paulo e Vasconcellos et al. (1997) em seis estados brasileiros (MG, RJ, SP, MS, PR e RS) a positividade dos animais foi de 53,9%, 50,5% e 60,4%, respectivamente.

Tabela 1. Incidência de *Leptospira* sp. em reprodutores da propriedade A no município de Antonio Prado, 2008.

Sorovares	Número de amostras	Porcentagem (%)
<i>L. hardjo</i>	07	30,4
<i>L. hardjo</i> + <i>L. wolffi</i>	02	8,7
<i>L. hardjo</i> + <i>L. icterohaemorrhagiae</i>	02	8,7
<i>L. hardjo</i> + <i>L. wolffi</i> + <i>L. icterohaemorrhagiae</i>	02	8,7
<i>L. hardjo</i> + <i>L. wolffi</i> + <i>L. butembo</i>	02	8,7
Amostras negativas	08	34,8
Total	23	100

Outras enfermidades, como campilobacteriose, brucelose, toxoplasmose e neosporose têm apresentado prevalência significativa no Rio Grande do Sul. No entanto, alguns dos exames laboratoriais têm custos honorários. Como se identificaram titulações elevadas de um agente etiológico nos animais da propriedade A, considerou-se este responsável pelas repetições de cio frequente, assim como na fazenda B. Em virtude disso, todos os animais em reprodução (vacas e touros) do rebanho positivo para leptospirose foram submetidos ao tratamento com sulfato de estreptomicina em dose única de 25mg kg⁻¹, intramuscular, como recomendado por Huhn et al. (1993). Esses animais não foram reavaliados, pois o pecuarista não teve interesse, argumentando que a taxa de repetição de cio havia reduzido.

Neste estudo, em um dos bovinos da propriedade B isolaram-se trofozoítas de *T. foetus* na primeira coleta e em outro cinco animais encontraram-se raros trofozoítas semelhantes ao gênero *Tritrichomonas*. No entanto, não foi possível multiplicar este em meio de cultura e corar em lâmina com Giemsa, o que confirmaria o diagnóstico. Na segunda análise desta propriedade, nenhum dos animais apresentou o flagelado, assim como ocorreu na propriedade A nos dois momentos. O exame utilizado neste caso é aceito pelo Ministério da Agricultura, mas não é tão específico e sensível quanto técnica da polimerase em cadeias (PCR). A prevalência deste protozoário tem reduzido significativamente em vários países, possivelmente devido ao crescente uso da inseminação artificial, que permite um maior controle de transmissão de muitas enfermidades. No Rio Grande do Sul, Gomes et

al. (1991), isolaram e identificaram 43 amostras positivas para o flagelado entre as 2286 examinadas, durante o período de 1972 a 1987 em 15 municípios do Estado. Neste mesmo trabalho a tritricomonose foi detectada em 2,2% das 191 amostras de esmegma de touros mantidos em três centrais de inseminação artificial. Desde então, não foram realizadas pesquisas de prevalência de *T. foetus* no sul do país. Porém, acreditava-se que a doença estava controlada até este caso de isolamento do parasito, concomitantemente a problemas reprodutivos de repetição de cio observados pelo produtor. Recentemente, pesquisadores investigaram a presença de *T. foetus* em touros da pecuária leiteira no estado Rio de Janeiro, onde constataram ausência do parasito a partir da técnica de exame direto em lavado prepucial (ROCHA et al., 2009).

Conclusão

Com base nestes resultados sugere-se que a leptospirose e a tritricomonose sejam a causa do elevado índice de repetição de cio nas propriedades avaliadas. No entanto, não se podem descartar outras enfermidades que poderiam estar associadas. O monitoramento de propriedades pode ser uma forma de reduzir prejuízos de perdas reprodutivas, guiando o veterinário na conduta adequada.

Referências

- AGUIAR, D. M. et al. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 102-104, 2006.
- BRASIL. Fundação Nacional da Saúde. **Manual de leptospirose**. Brasília, 1995, 97 p.
- CAVAZINI, N. C. et al. Eficiência reprodutiva de vacas com leptospirose após tratamento com sulfato de estreptomicina. **Revista da Faculdade de Veterinária, Zootecnia e Agronomia**, v. 15, n. 1, p. 152-159, 2008.
- EMBRAPA. **Gado de corte: cuidados com as doenças da reprodução na estação de monta**. 1997. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD21.html>>. Acesso em: 15 jul. 2008.
- FAINE, S. **Leptospira and leptospirosis**. Melbourne: MedSci, 1999. 353 p.
- FUJII, T. U. et al. Anticorpos anti-*Neospora caninum* e contra outros agentes de abortamentos em búfalas da região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 68, n. 2, p. 5-9, 2001.
- GALTON, M. M. et al. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 81-85, 1965.
- GOMES, M. J. P. et al. Identificação de *Tritrichomonas foetus* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo**

Faculdade Veterinária UFRGS, v. 19, p. 103-111, 1991.

GUIDA, H. G. et al. Conservação do *Trichomonas foetus* no meio de Rieck modificado. **Publicação Instituto de Zootecnia**, v. 35, p. 1-7, 1960.

HUHN, R. G. et al. Immunity to Leptospirosis: *Leptospira interrogans* serotype *pomona* bacterins in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, p. 59-65, 1993.

LEITE, R. C. et al. Tritricomonose bovina: diagnósticos realizados na Escola de Veterinária da UFMG no período de 1979 a 1995. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, n. 2, p. 166-168, 1997.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, p. 296-326, 2001.

LILENBAUM, W. Atualização em leptospiroses bovinas. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 9-13, 1996.

ROCHA, F. S. et al. I Investigação de *Campylobacter fetus* e *Tritrichomonas foetus* na mucosa prepucial de touros da região do Médio Paraíba, RJ. **Ciência Rural**, 2009.

VASCONCELLOS, S. A. et al. Leptospirose bovina: níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Período de janeiro a abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 23, p. 406-407, 1997.

Recebido em: 12/09/2008

Aceito em: 20/08/2009