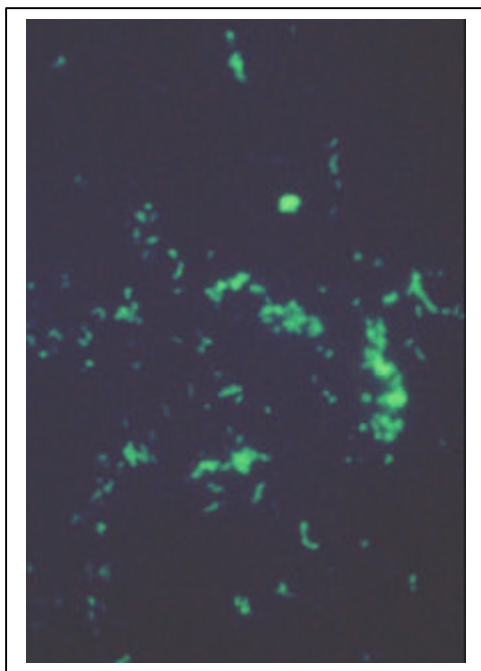


44

Circular
Técnica

Imunofluorescência Direta: Um Teste Sensível e Específico Para o Diagnóstico da Campilobacteriose Genital em Touros



A Campilobacteriose Genital Bovina é uma enfermidade de caráter eminentemente venéreo causada pelo *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. O habitat natural deste agente é o trato reprodutivo dos bovinos; no touro ele coloniza a mucosa prepucial e na vaca a mucosa da vagina, cérvix, útero e ovidutos. Por outro lado, o *C. fetus* subsp. *fetus* tem seu habitat no intestino e causa abortos esporádicos em bovinos, aborto enzoótico em ovinos e septicemia no homem (Dekeyser, 1984).

C. fetus é uma bactéria que interfere com a função reprodutiva em ungulados e são patógenos oportunistas no homem. A espécie *C. fetus* está dividida em duas subespécies *C. fetus* subsp. *fetus* e *C. fetus* subsp. *venerealis*, cujo DNA possui homologia de aproximadamente 98%, sendo também semelhantes as patologias que causam no animal (Dworkin & Blaser, 1997).

Corumbá, MS
Dezembro, 2003

Autores

Aiesca Oliveira Pellegrin
Med. Veterinária
Ph.D., Ciência Animal
Rua 21 de setembro, 1880,
CP 109, CEP 79320900
Corumbá MS

Josely Ferreira Figueiredo
Med. Vet. Bolsista Capes
Texas A&M University

Romulo Cerqueira Leite
Med. Vet. Prof Adjunto,
DMVP-EV- UFMG
Belo Horizonte, MG

Andrey P Lage
Med. Vet. Prof Adjunto,
DMVP-EV- UFMG
Belo Horizonte, MG

Os fatores de risco considerados mais importantes para a infecção pelo *C. fetus* subsp. *venerealis* em sistemas de produção utilizados em países tropicais são: a utilização de manejo reprodutivo com monta natural; uso de touros com idade superior a 4-5 anos no rebanho; presença de touros sem controle sanitário para a Campilobacteriose Genital Bovina (Stoessel, 1982) e manejo reprodutivo que utiliza monta o ano inteiro ao invés de um período limitado de estação de monta.

A estimativa da prevalência da Campilobacteriose Genital Bovina no rebanho do Pantanal foi realizada em 19 conglomerados pela imunofluorescência direta em lavados prepuciais, principalmente na sub-região da Nhecolândia, obtendo-se 52,3%(170) de prevalência em touros, com intervalo de confiança (IC) variando de 42,6% - 62,0%), e 89,5% (17) de propriedades positivas (Pellegrin et al., 2002). Pelos resultados encontrados neste trabalho, é sugestiva a participação da Campilobacteriose Genital Bovina no cenário da produção pecuária regional, como uma das causas do baixo índice reprodutivo. Apesar dos sinais de sua presença passarem despercebidos, em função da falta de maior controle dos índices reprodutivos, a prevalência de rebanhos e de touros portadores do *C. fetus* subsp. *venerealis* estimadas para a região foram altamente sugestivas. Dessa forma, torna-se necessário ter disponível um teste que seja sensível e específico o suficiente para permitir a identificação e o controle da Campilobacteriose Genital Bovina nos rebanhos da região.

A transmissão do *C. fetus* subsp. *venerealis* de touros infectados para fêmeas pode chegar a 100% e a infertilidade temporária, representada pela repetição de cio, atinge mais comumente as novilhas e vacas jovens, sendo que a taxa de prenhez de fêmeas infectadas pode estar em torno de 20% (Newsan, 1960).

O controle da doença baseia-se na interrupção da transmissão, que é basicamente venérea. Em países onde o sistema de produção de gado de corte não utiliza monta natural, e sim inseminação artificial, a doença não tem sido mais detectada.

O diagnóstico da Campilobacteriose Genital Bovina associa métodos laboratoriais e clínico-epidemiológicos, baseando-se na detecção do agente, por isolamento e métodos moleculares, ou ainda por métodos imunológicos, como imunofluorescência ou imunoperoxidase (Genovez, 1997)

Nem todos os métodos são adequados para todas as situações. Métodos como o de isolamento que requerem um transporte rápido do material para o laboratório não demonstram ser adequados para regiões como a do Pantanal, pois o *C. fetus* subsp. *Venerealis* apresenta baixa taxa de sobrevivência do *C. fetus* fora do hospedeiro, quando se utilizam métodos tradicionais de isolamento e cultura pois o organismo é microaerófilo e de crescimento demorado (Clark & Dufty, 1972; Lander, 1990). A dificuldade de acesso as propriedades e as grandes distâncias entre estas e o laboratório causaram um entrave a utilização do método de isolamento, uma vez que houve grande proliferação de contaminantes (Pellegrin, informação pessoal).

O teste de imunofluorescência direta, utilizado pela primeira vez no Brasil em 1977 (Leite, 1977) apresenta grandes vantagens, tendo permitido avançar no conhecimento da epidemiologia da Campilobacteriose Genital Bovina. Embora não tenha a capacidade de distinguir as duas subespécies de *C. fetus*, o *C. fetus* subsp. *fetus* e o *C. fetus* subsp. *venerealis* apresenta igual sensibilidade ao teste da novilha virgem, com a conveniência de ser muito mais prático e econômico (Leite, 1977). O diagnóstico pela imunofluorescência direta, quando comparado com a cultura, é efetuado em curto espaço de tempo, a presença de contaminantes não se constitui um problema e as condições de coleta e tempo entre esta e o diagnóstico não precisam ser tão rígidas (Philppot, 1968; Figueiredo et al., 2002).

É um aspecto primordial para o sucesso do diagnóstico da Campilobacteriose Genital Bovina uma coleta apropriada do material. A sensibilidade do diagnóstico está diretamente relacionada ao método e frequência de coleta e, principalmente, ao acondicionamento e transporte do material, sendo que coletas repetidas no mesmo animal diminuem a probabilidade de resultados falsos negativos (Stoessel, 1982), ou seja, animais que embora sejam portadores do *C. fetus* apresentam resultado negativo ao serem submetidos ao exame laboratorial.

A forma de coleta também é um dos fatores que pode diminuir a sensibilidade absoluta do teste pois o número mínimo de bactérias presentes na amostra detectáveis pelo teste é de 100 bactérias por mililitro (10^2 UFC/mL) (Figueiredo et al., 2002)

Leite et al. (1995) adaptaram uma técnica de coleta de lavado prepucial, comparando-a com a técnica de coleta pelo swab prepucial e concluíram que ambas eram igualmente eficientes quando utilizado o diagnóstico pela imunofluorescência direta.

De todos os aspectos a serem considerados no diagnóstico da Campilobacteriose Genital Bovina devemos enfatizar o repouso sexual dos touros, no mínimo de 15 dias, antes e durante o intervalo entre as coletas e a frequência das coletas, no mínimo de três, para que um animal seja considerado negativo (Lage & Leite, 2000).

O teste de Imunofluorescência apresenta boa sensibilidade, estimada em 92,59, que significa que de 100 touros portadores do *C. fetus* no prepúcio, 92 deles são identificados no diagnóstico (Figueiredo et al., 2002). Por outro lado a especificidade, estimada em 88,88% significa que de 100 touros negativos, 88 deles darão um resultado negativo ao teste (Thrusfield, 1995). Considerando que praticamente nenhum teste diagnóstico é 100% sensível ou 100% específico estes resultados tornam a imunofluorescência direta um teste adequado para identificar rebanhos suspeitos de estarem mantendo a doença.

Apesar de ser um teste com muito bom desempenho, uma das principais exigências é a utilização de um técnico treinado para a interpretação dos resultados; a ausência deste poderá diminuir este desempenho (Figueiredo et al., 2002).

Conclusões e recomendações

O teste de Imunofluorescência direta por sua sensibilidade e especificidade é altamente recomendado para triagem e controle da Campilobacteriose Genital Bovina nos rebanhos, devendo ser os touros testados antes de cada estação de monta. Recomenda-se que os animais sejam submetidos a três testes, com intervalos de 15 dias entre as coletas.

Referências Bibliográficas

- CLARK, B. L.; DUFTY, B. V. A method for maintaining the viability of *Vibrio fetus* var. *venerealis* in samples of prepucial secretion collected from carrier bulls. **Australian Veterinary Journal.**, v. 48, p. 462-464, 1972.
- DEKEYSER J Bovine genital Campylobacteriosis. In: BUTZLER, J. P. (Ed), *Campylobacter infection in man and animal*. Boca Raton: CRC Press, 1984. p.181-191.
- DWORKIN, J.; BLASER, M.J. Molecular mechanisms of *Campylobacter fetus* surface layer protein expression. **Molecular Microbiology**, v.19, p.1241-1253, 1997.
- FIGUEIREDO, J. F. F.; PELLEGRIN, A. O.; FÓSCOLO, C. B.; MACHADO, R. P.; MIRANDA, K. L.; LAGE, A. P. Evaluation of direct fluorescent test for the diagnosis of Bovine Genital Campylobacteriosis. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, v.44, n.3/4, p. 124-128, 2002.

- GENOVEZ, M. E. Campilobacteriose Genital Bovina. In: SIMPÓSIO PFZER SOBRE DOENÇAS INFECCIOSAS E VACINAS PARA BOVINOS, 2., 1997, Caxambú. Anais..., **Anais...** Belo Horizonte, MG: [s.n.], 1997., p.49-53.
- LAGE, A. P. ; LEITE, R. C. Campilobacteriose genital bovina (Vibriose). *Pecuária de Corte*, v.100, p.50-54, 2000.
- LANDER, K. P. The application of transport and enrichment medium to the diagnosis of *Campylobacter fetus* infections in bulls. **British Veterinary Journal.**, v.146:p.334-340, 1990.
- LEITE, R. C; HADDAD, J. P; COSTA, G. M; PELLEGRIN, A. O.; RIBEIRO, A. C. C. L. Técnica modificada para coleta de lavado prepucial de touros, para exame de tricomonose e ou campilobacteriose. **Revista Brasileira. Reprodução Animal.**, v.19, p.434, 1995.
- LEITE, R. C. **Avaliação de alguns métodos de diagnóstico e análise custo/benefício do controle da campilobacteriose bovina.**1977. 38 p. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, UFMG. 1977. 38p Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) -- Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, MG.
- NEWSAN, I. D. B. Experimental *Vibrio fetus* infection in heifers. part.I: infection and conception rates, and diagnosis. **Australian Veterinary Journal.** v.36, p.426-431, 1960.
- PELLEGRIN, A. O. **Campilobacteriose Genital Bovina na sub-região de Nhecolândia do Pantanal Sul Mato-Grossense e proposição de novas técnicas de diagnóstico.** 2001. 76 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) -- Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.
- PHILPOTT, M. Diagnosis of *Vibrio fetus* infection in the bull. **Veterinary Record.**, v. 82, p. 458 - 463, 1968.
- STOESSEL, F. **Las enfermedades venereas de los bovinos: Trichomoniasis y vibriosis genital.** Zaragoza: Acribia, 1982. 163 p.
- THRUSFIELD, M. *Veterinary Epidemiology.* 2.ed. Oxford: Blackwell Science. 1995. 479p..

Circular Técnica, 44

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

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

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

Comitê de Publicações

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

Expediente

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