

# Um novo meio de transporte e cultivo para *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 1928). II: Teste comparativo de eficiência na tricomonose em touros

## (A new transfer and culture medium to *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 1928). II: Efficacy testing for bull trichomoniasis)

LOPES, Leila Maria Silva\*, GUIDA, Helio Gustavo\*\*, SERRA-FREIRE, Nicolau Maués\*\*\*, JESUS, Vera Lucia Teixeira de\*\*\*\*, ANDRADE, Vania Lucia Baeta\*\*\*\*\* e PEREIRA, Elizabeth Bastos Balesteiros\*\*\*\*\*

### Resumo

A eficiência do meio LACTOPEP para transporte e cultivo de *Tritrichomonas foetus* foi testada utilizando-se 26 touros comprovadamente positivos para Tricomonose, diagnosticados pelo SPR/NPSA/EMBRAPA-RJ. O método utilizado para a coleta do material foi o lavado prepucial com solução salina a 0,85%. Ao lavado adicionou-se 3,0g do meio LACTOPEP. Do material coletado no animal, uma parte foi usada para a adição de 3,0g do meio Guida-Kupferberg que serviria para comparação; os dois meios foram mantidos em temperatura ambiente e examinados diariamente ao microscópio. Os resultados obtidos foram analisados concluindo-se que ambos são eficientes para a manutenção e multiplicação de *T. foetus*. O meio LACTOPEP apresenta a vantagem de requerer componentes simples e baixo custo de produção.

Palavras-chave: Tricomonose Bovina; meio de transporte; meio de cultura; Peptona; meio LACTOPEP.

### Introdução

As perdas econômicas decorrentes da elevada incidência de abortos e baixo índice de partições classificam a Tricomonose Bovina como a terceira entre as Doenças da Reprodução, no Estado do Rio de Janeiro (Guida e Langenegger, 1989). Na Califórnia, em pesquisas com gado de corte, Clark *et al.* (1986) detectaram 17,6% de redução na produção de bezerras, aumento do intervalo entre partos de 96-99 dias por ano, e índice de abortos aumentando de dez para 42%.

Uma das grandes dificuldades para o controle da tricomonose está na realização do diagnóstico preciso. Tal fato

advém de que os sinais clínicos não são patognomônicos tornando indispensável o diagnóstico laboratorial e, para tal, utilizam-se meios que possam garantir a viabilidade do protozoário no transporte do campo para o laboratório. Nos exames diretos como microscopia ótica, frequentemente os *T. foetus* não são visualizados, como consequência do número reduzido de espécimes nas criptas prepuciais, especialmente se o touro permanecer constantemente em serviço. Para aumentar as possibilidades de diagnóstico, Skirrow e Bon Durant (1988) recomendam repouso sexual de pelo menos uma semana, permitindo o aumento do número de protozoários e assim facilitando o diagnóstico.

No campo, a utilização dos meios de cultivo convencionais nem sempre é prática, comprometendo a eficiência. Assim é necessário o emprego de um meio simples e de fácil manuseio. Com essas características e ainda com baixo custo foi elaborado o meio LACTOPEP (Lopes *et al.*, 1994), constituído de leite em pó, peptona bacteriológica e antibióticos, com o objetivo de uso no transporte e manutenção dos tricomonas vivos, com boa taxa de reprodução, desde a coleta do material até a realização do diagnóstico laboratorial.

O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência do meio LACTOPEP no diagnóstico da tricomonose em touros.

### Material e Métodos

O meio LACTOPEP foi preparado segundo Lopes *et al.* (1994). Foram isoladas 26 alíquotas de 3,0g do meio, acondicionando-se em frascos assépticos, com boa vedação a fim de evitar a umidade, pois a peptona possui alto teor higroscópico.

\* Médica Veterinária - Núcleo Experimental de Iguaba/UFF

\*\*Pesq. Aposentado NPSA/EMBRAPA

\*\*\*Profº Titular-Parasitologia Veterinária DPA/UFRRJ

\*\*\*\*Médica Veterinária FIPRA;

\*\*\*\*\*Pesq. NSPA/EMBRAPA;

\*\*\*\*\*Profº Adjunto-Deptº Matemática/UFRRJ

O método de coleta dos tricomonas foi o lavado prepucial utilizando-se o aparelho G.M. (Mello 1953) contendo 60 ml de solução salina a 0,85%. A amostra constou de 26 touros comprovadamente portadores de tricomonose, diagnosticados pelo SPR/NPSA/EMBRAPA-RJ. Para a coleta do material cuidou-se para evitar a contaminação do meio com urina do touro, durante os procedimentos com o aparelho G.M. Foi utilizada solução salina com temperatura média de 37°C, e realizada rigorosa massagem prepucial no intuito de deslocar o maior número possível de protozoários. Após a solução salina ser recolhida por gravidade, dividia-se o volume; em uma das partes acrescentava-se o meio LACTOPEP, e na outra o meio Guida-Kupferberg que serviria de testemunha por apresentar excelentes resultados no transporte e cultivo do *T. foetus* em pesquisas realizadas no SPR/NPSA/EMBRAPA-RJ.

Após homogeneização, os meios foram mantidos em temperatura ambiente e analisados a partir de 24 horas da coleta, observando-se entre lâminas e laminulas, ao microscópio, com aumento de 100%. Os exames foram diários procedendo-se a contagem de 30 campos microscópicos em cada lâminas; estas contagens foram subsequentes até a não visualização dos protozoários.

O Delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado, para os grupos e número de dias até a última leitura. Para a comparação entre os meios foi feita a análise da variância pelo modelo matemático  $y = \mu + t_i + e_{ij}$  onde  $\mu$  = média geral,  $t_i$  = efeito das doses, e  $e_{ij}$  = efeito do erro. Nas análises estatísticas foram utilizados procedimentos do programa Statworks.

## Resultados

A média do número de dias de leitura, para o meio LACTOPEP foi 16,88 enquanto para o meio Guida-Kupferberg foi de 17,07 (Tabela 1); porém não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os dois meios testados (Tabela 2).

## Discussão

No Brasil é comum a dificuldade de acesso ou mesmo o isolamento de propriedades rurais tornando difícil o correto acompanhamento, zoonitário nas mesmas. A necessidade de se realizar diversos exames em vários animais na mesma propriedade, muitas vezes inviabiliza a execução no mesmo dia, não permitindo o diagnóstico imediato de doenças que requeiram apoio laboratorial, como a Tricomonose Bovina. Nestes casos é imprescindível a utilização de meio de transporte que mantenha o protozoário viável até o laboratório. Diversos meios pesquisados (Martinez *et al.* 1985) requeriam componentes complexos no seu manuseio e, equipamentos para a conservação em temperatura controlada. O meio proposto por Lopes *et al.* (1994) e testado agora, requer componentes simples, é mantido em temperatura ambiente, não exige equipamentos para o seu transporte, e pode ser carregado até em um simples bolso de vestuário.

Seldmeier (1942) não conseguiu isolar *T. foetus* do saco prepucial de bovinos, apesar da utilização de um meio rico

**Tabela 1** - Comparação do meio LACTOPEP com o meio Guida-Kupferberg considerando o número de dias até a última leitura com *Trichomonas foetus*, em amostras procedentes de 26 touros naturalmente infectados

Touros	Nº de dias com a presença de <i>T. foetus</i>	
	LACTOPEP	Guida-Kupferberg
1	16	21
2	17	19
3	17	19
4	18	21
5	17	16
6	17	18
7	17	14
8	16	19
9	20	10
10	18	19
11	16	12
12	14	18
13	20	19
14	19	19
15	17	16
16	21	12
17	12	13
18	17	14
19	18	17
20	17	18
21	16	17
22	13	12
23	19	18
24	19	17
25	13	18
26	15	19
Média	16,88	17,07

**Tabela 2** - Análise de variância do número de dias de leitura de *Trichomonas foetus*, considerando-se os meios LACTOPEP a e Guida-Kupferberg para 26 touros naturalmente infectados

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.	F	
Meios	1	0,475586	0,08	NS
Resíduo	50	6,049840		

C.V. = 14,4849%

NS = Não significativo pelo teste "F" de Snedecor

em nutrientes, contendo especialmente a peptona. Após avaliação concluiu-se que o insucesso decorreu do fato de não ter sido acrescentada uma quantidade mínima de antibióticos capaz de conter a multiplicação bacteriana. O meio LACTOPEP contém antibióticos.

Pela análise comparativa entre o meio LACTOPEP e o testemunha (Tabela 1), observou-se que o meio Guida-Kupferberg foi aparentemente melhor que o LACTOPEP, no

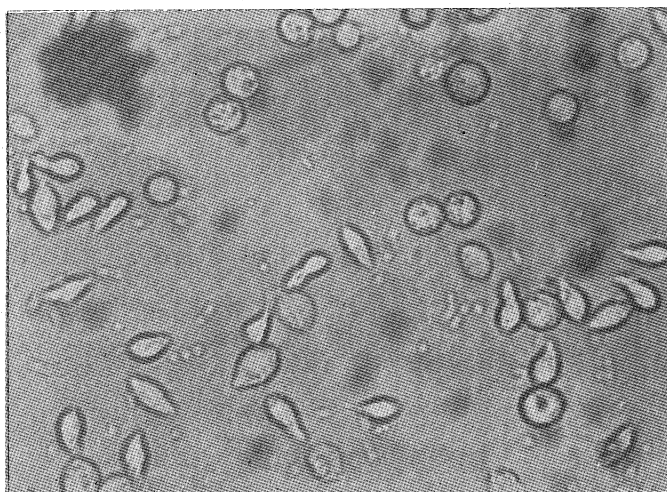


Fig.1 - *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 1928) cultivado em meio LACTOPEP; fase de multiplicação exponencial.

entanto a diferença foi não significativa como demonstra a análise da variância (Tabela 2). Assim considera-se o meio LACTOPEP igualmente eficiente no cultivo de *T. foetus* (Fig. 1), com a vantagem de ser mais econômico e de manuseio mais simples.

### Conclusão

O meio LACTOPEP favorece a multiplicação do *T. foetus* por um período satisfatório para se realizar o diagnóstico da Tricomonose Bovina com eficiência e segurança. O meio LACTOPEP apresenta a vantagem sobre o meio Guida-Kupferberg de requerer componentes simples, de baixo custo, fácil aquisição, elaboração e manutenção em temperatura não controlada, o que facilita sobremaneira o trabalho do profissional de campo.

### Summary

#### A new transfer and culture medium to *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 1928). II: Efficacy testing for bull trichomoniasis

Lactopep medium efficacy for transfer and culture of *Tritrichomonas foetus* was checked in samples obtained from 26 bulls knowngly *Tritrichomonas* - positive. Samples were obtained by preputial washing with 0,85% saline solution and were divided into two groups; three grams Lactopep were added to one group and three grams Guida-Kupferberg medium were added to the other group (for comparison). Both groups were kept at environmental temperature and daily examined under microscopy. The results obtained were analysed and the conclusion is that both media are efficient for *T. foetus* maintenance and multiplication but Lactopep requires simpler components and is produced at lower cost.

Key Words: Bull trichomoniasis; Transfer medium, Culture medium; Peptone; LACTOPEP medium.

### Referências Bibliográficas

- CLARK, B.L., DUFTY, J.H., Parsonson, I.M. The Frequency of Infertility and Abortion in Cows Infected with *Tritrichomonas foetus* var. *Brisban*. *Austr. Vet. J.*, v. 63, p 31-32, 1986.
- GUIDA, H.G., LANGNEGGER, J. Doenças Infeciosas da Reprodução Reduzem Produtividade do Rebanho Leiteiro. *Gado Holandes*, v. 54, n 160, p. 36-38, 1989.
- LOPES, L.M.S., GUIDA, H.G., SERRA-FREIRE, N.M., JESUS, V.L.T., ANDRADE, V.L.B., PEREIRA, E.B.B. Um Novo Meio de Transporte e Cultivo para *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller, 1928). I - Número de dias de leitura. *Semina*, (no prelo), 1994.
- MARTINEZ, A.H., BARDON, J.C., NOSEDA, R.P., Cordeviola, J.M. Diagnóstico de Tritrichomoniasis en Toros. Propuesta de um Esquema de Diagnóstico. *Vet. Arq.*, v. 2, n. 20, p. 966-977, 1985.
- MELLO, M.R. Meio Prático para Diagnóstico da Tricomoniasse Bovina. *Bol. Soc. Bras. Med. Vet.*, v. 21, p. 11-19, 1953.
- SELDMEIER, H. Culture of *T. foetus* on a solid medium. *Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.*, v. 2, p. 240-242, 1942.
- SKIRROW, S.R.; BON DURANT, R.H. Bovine Trichomoniasis. *Vet. Bull.* v. 58, n. 8, p. 591-603, 1988.