

INVESTIGAÇÃO DE POSSÍVEIS CONTAMINANTES EM VAGINA ARTIFICIAL UTILIZADA PARA COLETA DE SÊMEN OVINO

RIZZOTO, Guilherme¹; MADEIRA, Elisângela M. ¹; PRADIEÉ, Jorgea¹; FERRI, Érica¹; BIANCHI, Ivan¹.

¹ Grupo de pesquisa ReproPel - PigPel - Faculdade de Veterinária – UFPel
Campus Universitário s/n – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900
Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.
E-mail: guilhermerizzoto@hotmail.com
Site: <http://www.ufpel.edu.br/fvet/repropel-pigpel/>

1 INTRODUÇÃO

O uso da biotécnica de inseminação artificial (IA) é objeto de estritos requerimentos legais para atender o sistema produtivo evitando a disseminação de doenças. No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) é responsável pelo controle da qualidade das doses de sêmen produzidas em centrais de coleta devidamente registradas. A normatização prevê que todos os reprodutores que ingressem na central devem ser submetidos ao período de quarentena, durante o qual são realizados exames para atestar a sanidade dos animais e, a partir de então, os exames são realizados semestralmente (Wentink *et al.*, 2000).

Como o sêmen, mesmo obtido de reprodutores clinicamente saudáveis, não é estéril, considera-se aceitável a presença de baixas contagens de bactérias não patogênicas e oportunistas e até um reduzido número de bactérias potencialmente patogênicas. Além desta carga bacteriana, ocorrem contaminações durante a coleta e processamento do sêmen (Ruigh *et al.*, 2006), podendo alterar a flora bacteriana normal o que pode provocar redução da motilidade espermática (Smole *et al.*, 2008).

O objetivo deste estudo foi identificar os principais microrganismos presentes na vagina artificial (VA) comumente utilizada em coletas de sêmen ovino, a fim de prevenir as contaminações por microrganismos oportunistas nas doses inseminantes, o que pode prejudicar a viabilidade espermática.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Foram utilizados (n=6) machos ovinos da raça crioula lanada, alojados nas instalações do Biotério Central, UFPel, recebendo suplementação concentrada e tendo acesso a pastagem nativa, sal mineral e água *ad libitum*. O ejaculado foi coletado com o uso de vagina artificial (VA) montada momentos antes da coleta, em condições higiênico-sanitárias adequadas. O processo de montagem consiste em colocar o tubo flexível (látex) acoplado ao tubo rígido e inserir água através da válvula, a uma temperatura de aproximadamente 70°C. No momento anterior a coleta de sêmen, uma amostra de superfície da VA era coletada através de swab comercial. Após, procedia-se a coleta dos ejaculados, para congelamento em diluente tris-gema-glicerol 1:4 (Evans & Maxwell, 1987).

As amostras foram inoculadas em ágar Sangue Ovino 5%, durante 24 e 48 horas de incubação. Após anotações das características morfotintórias das colônias e coloração utilizando-se a técnica de Gram, estas foram submetidas às provas bioquímicas para identificação do gênero bacteriano.

Para a higiene das VA procedia-se a limpeza com água e sabão neutro, usando uma escova arredondada para que toda a sujeira que se encontrava em seu interior fosse removida. Eram ainda enxaguadas com água em abundância e três vezes com água destilada, e logo após, colocadas em uma caixa para secagem a temperatura ambiente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dentre as amostras coletadas (n=60), houve crescimento bacteriano em 31 delas, ou seja, 51,7% apresentaram crescimento bacteriano. Tal número demonstra que existem falhas no processo de higienização das VA, principalmente do tubo flexível. Estes resultados corroboram com os dados apresentados por ANDRES *et al*, (2009), os quais mostram contaminação em 16,7% dos tubos de látex analisados.

Verificou-se a presença de *Staphylococcus spp.* em 38,3% das amostras. Este é um patógeno gram-positivo, encontrado principalmente na pele e nas superfícies mucosas de animais de sangue quente (TIMONEY *et al*,1998). Também é causador de mastite ovina, de infecções do trato urinário, além de secretar proteínas bioativas (toxinas) como lipase e desoxiribonuclease, causando assim, destruição celular (BIBERSTEIN *et al* 1999).

Corynebacterium spp. esteve presente em 20% das amostras. É uma bactéria pleomórfica, gram-positiva, muito nociva e altamente adaptada ao trato urinário de machos ovinos e bovinos. No trato feminino, não encontra facilidade de permanência e é extremamente nociva após a transmissão venérea ou infecção por contato com urina contaminada (TIMONEY *et al*, 1998). Pode causar cistite hemorrágica, piodrite, ulcerações e hemorragias na parede da bexiga urinária, necrose de mucosas e do fígado (BIBERSTEIN *et al* 1999).

Bacillus spp., encontrado em 8,3% das amostras, é um agente patogênico em forma de bastonete gram-positivo, seus esporos são formados em aerobiose e são raros nos órgãos e sangue. As espécies do gênero *Bacillus*, em sua maioria, são saprófitas e não nocivas aos animais (TIMONEY *et al*, 1998).

Klebsiella spp. foi isolada em 5% das amostras é um agente patógeno oportunista, gram-negativo, que causa pneumonia, septicemia e infecção de tecidos moles. É oportunista pois se aproveita de uma fraqueza do sistema imunológico para invadir o organismo. Suas vias de contaminação são principalmente os tratos urinário e respiratório (CARTER,1988). Estes resultados mostraram que todos os gêneros bacterianos isolados são comumente encontrados no prepúcio e na uretra distal de animais, conforme citados por BIBERSTEIN *et al* (1999) e ALTHOUSE *et al* (2005).

4 CONCLUSÕES

Com este trabalho podemos observar que o procedimento de higiene (lavagem) mesmo quando bem feito com água e sabão neutro não é suficiente para eliminarmos as bactérias presentes na superfície da vagina artificial comumente utilizadas em coletas de sêmen. Frente aos resultados mostrados, consideramos importante a utilização de antibióticos como Penicilina, Streptomicina e Gentamicina no diluente uma vez que estes são eficazes contra uma gama de bactérias.

Apoio: CNPq e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

5 REFERÊNCIAS

ALTHOUSE, Gary C., Lu, Kristina G. Bacteriospermia in extended porcine semen. **Theriogenology**. USA.v.63. p. 573-584.2005.

ANDRES, Patrícia S., TIPLLE, Anaclara F. V. , CANDÉ, Tchernon A., BARROS, Cynthia A. de , MIRANDA, Patrícia V., PIMENTA, Fabiana C. Tubos de látex: esterilidade pós-reprocessamento em vapor saturado sob pressão. **Revista eletrônica de enfermagem**. V.11 n.2 p.280-285. 2009.

BIBERSTEIN, Ernst L., HIRSH, Dwight C. Corynebacteria, Arcanobacterium (Actinomyses) pyogens, Rhodococcus equi. In: HIRSH, Dwight C., ZEE, Yuan C. **Veterinary Microbiology**. Inglaterra: Blackwell Science, Inc, 1999. 23, p.127-134.

BIBERSTEIN, Ernst L., HIRSH, Dwight C. Staphylococci. In: HIRSH, Dwight C., ZEE, Yuan C. **Veterinary Microbiology**. Inglaterra: Blackwell Science, Inc, 1999. 21, p.115-119.

BIBERSTEIN, Ernst L., HIRSH, Dwight C., The Urinal Tract as a Microbial Habitat, Urinary Tract Infection .In: HIRSH, Dwight C., ZEE, Yuan C. **Veterinary Microbiology**. Inglaterra: Blackwell Science, Inc, 1999. 33, p.178-184

BIELANSKI, A. Disinfection procedures for controlling microorganism in the semen and embryos of humans and farm animals. **Theriogenology**. Canada.v.68 p.1-22. 2007.

CARTER, G.R. *Enterobacteriaceae*. In: CARTER, G.R. **Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária**.Brazil: Editora Roca Ltda, 1988.17, p.146.

EVANS, G., MAXWELL, W.M.C. **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. Sidney: Butterworths, p.194. 1987.

MAZA, Luiz M. de la, PEZZLO, Marie T., BARON, Ellen J. Gram Stain. In: MAZA, Luiz M. de la, PEZZLO, Marie T., BARON, Ellen J. **Color Atlas of Diagnostic Microbiology**.USA. Mosby Year-Book,Inc 1997. 4 , p.25-31

Smole I., Thomann A., Frey J., Perreten V. Repression of Common Bull Sperm Flora and In Vitro Impairment of Sperm Motility with Pseudomonas aeruginosa Introduced by Contaminated Lubricant. **Reprod Dom Anim**. 1439-0531. 2008.

TIMONEY, John F., GILESPIE, James H., Scott, Frederic W. BARLOUGH, Jeffrey E. The Genus Bacillus. In: TIMONEY, John F., GILESPIE, James H., Scott, Frederic W. BARLOUGH, Jeffrey E. **Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals**. Inghilterra: Cornell University Press,1998. 18, 171-180.

TIMONEY, John F., GILESPIE, James H., Scott, Frederic W. BARLOUGH, Jeffrey E. The Genera Corynebacterium and Eubacterium. In: TIMONEY, John F., GILESPIE, James H., Scott, Frederic W. BARLOUGH, Jeffrey E. **Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals**. Inghilterra: Cornell University Press,1998. 24,247-274.

TIMONEY, John F., GILESPIE, James H., Scott, Frederic W. BARLOUGH, Jeffrey E. The Genus Staphylococcus. In : TIMONEY, John F., GILESPIE, James H., Scott, Frederic W. BARLOUGH, Jeffrey E. **Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals**. Inghilterra: Cornell University Press,1998. 21, p.206-213.

Wentink GH, Frankena K, Bosch JC, Vandehoek JED, Prevention of disease transmission by semen in cattle. **Livest Prod Sci**. van den Berg Th, n. 62, p. 207-220. 2000.