

**ISOLAMENTO DE *CAMPYLOBACTER FETUS* SUBSPECIE *FETUS* EM FETO  
OVINO ABORTADO**

**ISOLATION OF *CAMPYLOBACTER FETUS FETUS* FROM OVINE ABORTED  
FETUS**

**EL AISLAMIENTO DE *CAMPYLOBACTER* SUBESPÉCIE *FETO* EN EL FETO  
OVINO ABORTADO**

**GRESSLER, L.T.\*<sup>1</sup>; KIRINUS, J.K.<sup>2</sup>; MACHADO, G<sup>3</sup>; PRESTES, D.S.<sup>4</sup>;  
VARGAS, A.C.<sup>5</sup>**

**RESUMO**

As infecções bacterianas têm distribuição mundial e podem causar aborto, nascimentos prematuros e morte fetal em diversas espécies animais. Em ovinos, os problemas reprodutivos caracterizados por aborto e natimortalidade podem advir de inúmeras causas. O diagnóstico adequado é importante, pois possibilita a identificação do patógeno, e auxilia na redução dos problemas econômicos e sanitários que a enfermidade é capaz de acarretar. A campilobacteriose, causada por *Campylobacter fetus* subespécie *fetus*, está comumente envolvida nos surtos de abortos ovinos. O agente etiológico pode estar presente na placenta, líquidos e partes do feto, o que possibilita a disseminação para outros animais bem como o homem. No presente trabalho, relata-se o isolamento de *Campylobacter fetus* subesp. *fetus* de dois fetos ovinos a termo, da raça Ile de France no ano de 2005 no município de São Vicente do Sul, localizado no Rio Grande do Sul. Os animais viviam em semi-confinamento, alimentavam-se de pastagem e encontravam-se em boas condições físicas. Deste modo, inicialmente suspeitou-se de campilobacteriose, que através de exames bacteriológicos, como cultivo em microaerofilia e caracterização molecular, pela técnica de PCR (reação em cadeia de polimerase) confirmou-se a identidade do patógeno. Alerta-se para possíveis casos de aborto em ovinos causados por *C. fetus* subesp. *fetus* na região centro-oeste do Rio Grande do Sul, visto que não existe outro relato sobre o assunto no Brasil.

**Palavras chave:** aborto, *Campylobacter fetus*, ovino, PCR

1 – Autor, Acadêmico, Curso de Medicina Veterinária, UFSM. Prédio 44, sala 5137, CCR, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS. Email: [letrevi@gmail.com](mailto:letrevi@gmail.com)

2 - Médico Veterinário, Mestrando no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. (PPGMV), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Prédio 44, sala 5137, CCR, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS.

3 - Acadêmico, Curso de Medicina Veterinária, UFSM. Prédio 44, sala 5137, CCR, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS.

4 - Médico Veterinário, Doutor, Professor Substituto do Centro Federal de Educação Tecnológica de São Vicente do Sul (CEFET-SVS), São Vicente do Sul, CEP 97420-000.

5 - Médico Veterinário, Doutor, Professor Adjunto, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Prédio 44, sala 5137, CCR, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS.

## ABSTRACT

Bacterial infections have worldwide distributions and can cause abort premature born and fetal death in many animals' species. In ovine, the reproductive's problems characterize as abort and death born can be present in many cases. The appropriate diagnostic is very important, because it allows the pathogen identification, and helps out to reduce sanitary and economic losses caused by this disease. The campylobacteriosis, is caused by *Campylobacter fetus* subspecies *fetus*, is usually involved in ovine aborts outbreaks in New Zealand, being isolate also in Brazil. The etiologic agent may be present in the placenta, liquid and fetus parts what give a chance to the pathogen affect others animals including the humans. In the present work, refers to the isolation of *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* of two term fetus, Ile de France on 2005 in a country called São Vicente do Sul, placed in the state of Rio Grande do Sul. The animals were in semi-confinement, fed on pasture and were in good physical conditions. Therefore, at first the suspect was campylobacteriosis, what through bacteriological exams, as microarofilia culturing and molecular characterization, using PCR (polymerase chain reaction), was confirmed the pathogen identification. Alert for possible cases of ovine abort caused by *C. fetus subesp. fetus* on the central-west of Rio Grande do Sul.

Keyword: abortion, *Campylobacter fetus*, ovine, PCR

## INTRODUÇÃO

Muitos casos de aborto em ovinos, bem como em outras espécies, não possuem diagnóstico definitivo, sendo a causa indeterminada. Agerholm et al. (2006) verificou que 50% dos casos incidentes não foram diagnosticados, e o restante possuía diversas causas, como *Yersinia pseudotuberculosis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Escherichia coli*, *Campylobacter fetus fetus*, *Toxoplasma gondii*, entre outros.

A ovinocultura brasileira apresenta grande importância econômica. Segundo levantamento realizado pelo IBGE, em 2005, no Rio Grande do Sul havia 3,7 mil cabeças de ovinos. Devido ao grande número desses animais, se faz necessário um controle sanitário adequado do rebanho, tendo em vista que problemas reprodutivos podem trazer prejuízos ao comércio do país, assim como a diminuição da produção pelo Estado, além de oferecer riscos zoonóticos à população.

As bactérias do gênero *Campylobacter* são estritamente microaerófilas, logo, não persistem na atmosfera rica em oxigênio e não são encontradas no meio ambiente (CARLIER, 1994). Estas bactérias são de difícil isolamento, uma vez que requerem condições especiais de transporte e cultura. Porém, o desenvolvimento de meios de transporte e novas formas de coleta das amostras têm permitido uma maior eficiência no isolamento destes microrganismos (GENOVEZ et al., 1989; LANDER, 1990).

A família *Campylobacteraceae* é composta pelos gêneros *Campylobacter* e *Arcobacter*, os quais estão intimamente relacionados e podem ser isolados do trato reprodutivo bovino (BASTYNS et al., 1994). *Campylobacter fetus* compreende duas subespécies, que diferem de forma significativa quanto à epidemiologia.

A campilobacteriose em ovelhas pode ser causada por *C. fetus* subespécie *fetus* ou por *C. jejuni* (QUINN et al., 2005). O *C. fetus fetus* pode ocorrer no trato intestinal de bovinos e ovinos, podendo causar aborto esporádico. Esta subespécie também tem sido implicada em infecções de pacientes humanos, principalmente nos imunocomprometidos, além de surtos envolvendo intoxicações alimentares (GENOVEZ et al., 1989).

O presente trabalho tem por objetivo relatar o diagnóstico de aborto em ovinos causado por *C. fetus fetus*, salientando o método de diagnóstico utilizado.

## MATERIAL E MÉTODOS

Em abril de 2005, no município de São Vicente do Sul localizado no Rio Grande do Sul, ocorreram dois casos de aborto em ovelhas que pariram fetos a termo em um rebanho da raça Ile France.

Os animais encontravam-se em semi-confinamento, alimentando-se de pastagem (aveia e milho) e apresentavam boas condições físicas. Foi a primeira vez que ocorreram abortos na propriedade. Os fetos possuíam 150 dias, eram do sexo feminino e masculino, e foram submetidos à necropsia no Laboratório de Patologia Veterinária, 12 horas após a morte.

Durante o exame histopatológico, foram analisadas alterações tanto macroscópicas quanto microscópicas e coletadas amostras de fígado e líquido abomasal de ambos os fetos. Posteriormente, as amostras foram encaminhadas para exames bacteriológicos.

No exame bacteriológico, as amostras foram submetidas a testes laboratoriais para confirmação da suspeita de campilobacteriose, onde permaneceram incubadas por três dias em meio de transporte e enriquecimento (TEM) segundo Lander (1990).

Após isso, foram semeadas em placas de ágar sangue número dois (Oxoid) ovino à 10% em aerofilia e microaerofilia (10% CO<sub>2</sub>, 6% O<sub>2</sub>, 84% N<sub>2</sub>).

Já na caracterização molecular, o DNA foi extraído do meio TEM após cinco dias de incubação, através do protocolo de CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide), precedido por uma digestão com 5µl de proteinase K (20mg/ml) por 60 minutos a 37°C, sendo posteriormente submetido à técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR).

Na PCR, foram utilizados *primers* específicos para *C. fetus fetus* (FET1F 5' CTCATAATTTAATTGCACTCATA 3' e 69Rar 5' CTTAGGACCGTTATAGTTAC 3'), conforme Bastyns et al., (1994). A mistura para reação constou de 5µL de DNA molde adicionados ao mix do PCR contendo: 25 pmol de cada primer, 10 mM/l de Tris-HCl, 50mM/l de KCl, 2 mM/l de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de cada dNTPs e 1U Taq DNA polimerase. Os resultados da PCR foram verificados em gel de 1,5% de agarose, corados com brometo de etídio e visualizados em luz ultravioleta. Como controle positivo, foi utilizado o DNA extraído da cepa de *C. fetus fetus* (ATCC 27374).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Rio Grande do Sul, estima-se 15% a 40% de mortalidade em cordeiros. A principal causa é o complexo inanição/hipotermia, responsável por 56% a 78% das

mortes, seguido das distocias (8,6% a 16,7%). A predação primária, as infecções neonatais, os abortos e as malformações congênitas foram pouco frequentes, menos de 5% para cada uma delas (NÓBREGA et al., 2005). No entanto, alertamos para ocorrência de possíveis falhas de diagnóstico, o que tornaria os números de casos de aborto e malformações congênitas mais expressivos do que aparentam ser.

As taxas de morbidade e mortalidade ocasionadas por doenças infecciosas são causas de sérias perdas econômicas, representando motivo permanente de preocupação, principalmente devido a relação com humanos. Os agentes infecciosos responsáveis por perdas neonatais são oportunistas e atuam secundariamente a problemas relacionados com o manejo (GENOVEZ et al., 1989).

No caso aqui apresentado, o proprietário relatou problemas reprodutivos caracterizados por aborto (no terço final da gestação) e natimortalidade em duas ovelhas da raça Ile France. Os animais eram vacinados contra carbúnculo sintomático, enterotoxemia e leptospirose. Além dos ovinos, também havia caninos, felinos, aves e eqüinos, sendo que todos esses animais tinham acesso aos mesmos ambientes.

Durante a necropsia, as amostras analisadas não apresentaram nenhuma alteração significativa, apenas alterações autolíticas, congestão difusa acentuada e consistência muito diminuída, o que não sugere nenhum diagnóstico relacionado à suspeita inicial. Segundo Quinn et al. (2005), apenas lesões necróticas circulares de dois cm de diâmetros, com bordas elevadas e claras e com centros deprimidos e escuros são evidentes na superfície do fígado de alguns cordeiros abortados, sendo estas lesões hepáticas, patognomônicas de campilobacteriose ovina.

Na análise microbiológica não foi verificado crescimento bacteriano compatível com *Campylobacter* sp. Problemas relacionados à cultura das espécies do gênero *Campylobacter* devido ao crescimento fastidioso são vastamente relatados (HUM et al., 1997).

Na caracterização molecular, foi visualizado uma amplificação de 835 pb,, igualmente a observada no controle positivo de *C. fetus fetus*.

A rapidez da identificação do agente etiológico pela detecção do seu DNA, em comparação ao método bacteriológico, torna a PCR uma alternativa prática aos laboratórios de diagnóstico. Essa técnica elimina o tempo de incubação, isolamento e testes bioquímicos em microrganismos de crescimento fastidioso, com poucas características bioquímicas para identificação, como é o caso de bactérias do gênero *Campylobacter* (ON & HARRINGTON, 2001).

## CONCLUSÕES

A etiologia, tendo em vista os resultados da caracterização molecular, confirmou a suspeita inicial, sendo o *Campylobacter fetus* subespécie *fetus* um patógeno de grande importância, principalmente em regiões onde a ovinocultura é praticada em grande escala. Deste modo, um diagnóstico eficiente determina o conhecimento das causas bem como as decisões a serem tomadas, a fim de tratar e controlar a doença no rebanho, evitando assim, maiores perdas econômicas na região

## REFERÊNCIAS

- AGERHOLM, J.S. et al. Veterinary and medical aspects of abortion in Danish sheep. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica** v.114, p.146–152, 2006
- BASTYNS, K. et al. Species-specific detection of *Campylobacters* important in veterinary medicine by PCR amplification of 23rDNA areas. **Systems Applied Microbiology**, v.17, p.563-568, 1994.
- CARLIER, V. Les campylobacterioses. **Bulletin de la Societe Veterinaire Pratique de France**, v.78, n.6-7, p. 333-337, 1994.
- GENOVEZ, M.E., SCARCELLI, E., ROJAS, S. Campilobacteriose genital: proposta de de diagnóstico mais sensível em touros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 56, n. 1 2, p. 5-7, 1989
- HUM, S., QUINN, K., BRUNNER, J., ON, S. Evaluation of a PCR assay for indentification and differentiation of *Campylobacter fetus* subspecies. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 11, p. 827-831, 1997.
- QUINN, P.J. et al. **Microbiologia Veterinária e doenças infecciosas**. Artmed: Porto Alegre, 2ed, p.172-174, 2005.
- LANDER, K.P. The development of a transport and enrichment medium for *Campylobacter fetus*. **Brazilian Veterinary Journal**, v.146, p.327-333, 1990.
- NÓBREGA, J. E. et al. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.3, p.171-178, 2005.
- ON, S.L.; 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 Applied Microbiology**, v.90, p.285-293, 2001.