AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINAIS DE LIBERAÇÃO LENTA DE PROGESTERONA EMPREGADOS EM FÊMEAS BOVINAS SUBMETIDAS A UM PROGRAMA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

Gabrielle Marcondes (PROVIC/UEPG), Fernanda Antunes Martins, Ester Moura Rios, José Luis Moletta, Luciana da Silva Leal Karolewski (Orientadora), e-mail: lu_s_leal@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Zootecnia

Zootecnia / Produção Animal

Palavras-chave: enterobactérias, reprodução animal, vaginite.

Resumo

Objetivou-se determinar se os dispositivos intravaginais consistem em um meio potencial para contaminação e proliferação de bactérias, em fêmeas bovinas sujeitas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo. Foram usadas 29 fêmeas, divididas em nulíparas, primíparas e pluríparas. Foram colhidas amostras da parede vaginal e do dispositivo intravaginal antes da inserção do dispositivo e após sua remoção. As amostras foram distribuídas em meios de cultura e as principais colônias isoladas foram caracterizadas. Os dados foram submetidos à estatística descritiva, com o cálculo dos percentuais considerando o isolamento nos meios de cultura. Para comparar o nº de colônias segundo o grupo de fêmeas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Houve um aumento de enterobactérias isoladas da vagina, após a retirada do dispositivo, nas três categorias animais. As nulíparas apresentaram aumento significativo, demonstrando que foram susceptíveis à contaminação por enterobactérias. Não houve isolamento microbiano nos dispositivos antes do uso. Conclui-se que os dispositivos intravaginais constituem um meio potencial para proliferação de enterobactérias no canal vaginal.

Introdução

Uma das práticas de reprodução empregada nas criações de bovinos é o programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Dentro desse programa, utilizam-se hormônios, como a progesterona (P_4), que induzem e alteram o ciclo estral das vacas, e seu fornecimento pode ser feito através de dispositivos intravaginais, porém são necessários certos cuidados com o manejo dos mesmos para poder utilizá-los sem perdas na eficiência e também para evitar que sejam meios de contaminação microbiana e transmissão de possíveis doenças para as vacas (RAMOS, 2016).

São várias as causas do aparecimento de doenças relacionadas à reprodução, provocadas pela redução da imunidade das fêmeas bovinas (SILVA et al., 2011). Devido a essa queda na imunidade, é que os microrganismos, normalmente presentes no trato genital, podem tornar-se patogênicos, desencadeando doenças no animal e diminuindo sua eficiência reprodutiva. Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi determinar se os dispositivos intravaginais de liberação lenta de P_4 consistem em um meio potencial para a contaminação e a proliferação de microrganismos vaginais, quando empregados em fêmeas bovinas submetidas a um programa de IATF.

Material e Métodos

O experimento foi executado na Estação Experimental Fazenda Modelo – Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR). O processamento das amostras e análises laboratoriais foram realizados no laboratório de Anatomia e Reprodução Animal do Departamento de Zootecnia, Bloco Z, UEPG.

Utilizou-se 29 fêmeas bovinas de corte, subdivididas em três categorias: nulíparas, primíparas e pluríparas. Com o auxílio de *swab* estéril, foram colhidas amostras da parede vaginal (antes da inserção do dispositivo) e do dispositivo (antes do uso); oito dias depois, foi realizada novamente a colheita das amostras das mesmas regiões, após a remoção dos dispositivos.

No laboratório, as amostras foram distribuídas em placas de Petri com os meios de cultura: ágar sangue, ágar MacConkey, ágar manitol e ágar fungo, incubadas em estufa BOD, a uma temperatura média de 35^0C, durante 24 a 48 horas; já as placas com o meio ágar fungo foram incubadas a temperatura ambiente (25ºC), por aproximadamente cinco dias. Foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) e também a caracterização das mesmas. Foi procedida então a coloração de Gram das principais colônias isoladas. Testes bioquímicos (catalase e oxidase) foram realizados para os microrganismos predominantes.

Para a análise dos dados foi empregado o programa estatístico Minitab 18®. Os dados, como contagem de colônias isoladas, foram submetidos à estatística descritiva, com o cálculo dos percentuais considerando o isolamento em cada meio de cultura e os resultados no método de GRAM. Os números de colônias contabilizadas foram convertidas para log UFC mL^{-1}. Para comparar o número de colônias contadas segundo o grupo de animais, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Resultados e Discussão

A tabela 1 demonstra as frequências (%) de microrganismos (bactérias Gram positivas, Gram negativas e fungos) que foram isolados do canal vaginal das fêmeas bovinas das diferentes categorias estudadas, antes da inserção dos dispositivos, e após sua remoção.

Tabela 1 – Frequências de microrganismos Gram positivos, Gram negativos e fungos presentes no canal vaginal de fêmeas bovinas de corte, antes e após a aplicação dos dispositivos intravaginais, Ponta Grossa/PR, 2019

	NULÍPARAS		PRIMÍPARAS		PLURÍPARAS	
	%		%		%	
	A*	D**	A	D	A	D
GRAM +	99,5	35,2	90,2	11,7	93,1	56,8
GRAM -	0,5	64,1	9,5	88,3	6,9	43,1
FUNGOS	0	0,7	0,3	0	0	0,1
TOTAL	100	100	100	100	100	100

*A: Antes da inserção dos dispositivos. **D: Depois da retirada dos dispositivos
Fonte: A autora

As nulíparas apresentaram o maior número de colônias isoladas do fundo vaginal antes da inserção dos dispositivos, sendo a grande maioria destes, bactérias Gram positivas (99,5%). Após a retirada dos dispositivos o crescimento predominante passou a ser de bactérias Gram negativas (64,1%). Para a categoria primíparas, a mesma situação ocorreu, como consta na tabela 1. Nas pluríparas, antes dos dispositivos, a maioria também foi de bactérias Gram positivas, porém foram as únicas a permanecer com isolamento mais acentuado deste tipo de bactéria após a retirada dos dispositivos (56,8%). Com relação aos fungos, não houve crescimento antes da utilização dos dispositivos nas categorias nulíparas e pluríparas. Nas primíparas, o crescimento foi maior no período antes da inserção (0,3%), e não foi observado crescimento após a retirada do dispositivo.

Com relação ao crescimento de bactérias Gram positivas, os isolados predominantes foram da família Staphilococcaceae. Essa família foi uma das principais descritas como pertencentes à microbiota vaginal de vacas saudáveis (GALVÃO; SANTOS, 2014), porém também está bastante associada a problemas reprodutivos (MARTINEZ-ROS et al. 2018).

Do total isolado, após a retirada dos dispositivos, microrganismos da família Enterobacteriaceae (Gram negativos colonizadores do trato gastrintestinal) tiveram maior prevalência, tanto no fundo vaginal das fêmeas das três categorias animais, quanto nos dispositivos, após o período de uso. Swartz et al. (2014) descreveram que além dos fatores hormonais interferirem na alteração da microbiota vaginal, os dispositivos podem facilitar a transmissão dos microrganismos de origem fecal para a região genital dos animais. Isso explica o fato de ter se aumentado a prevalência de bactérias Gram negativas no fundo vaginal, pois esse tipo de bactéria habita naturalmente o trato gastrintestinal.

Das espécies de enterobactérias que foram identificadas, *Enterobacter* spp. *Citrobacter* spp e *E. coli*. foram as mais isoladas. Como dito anteriormente, bactérias da família Enterobacteriaceae são habitantes naturais do trato intestinal de humanos e animais, mas também são comumente isoladas da mucosa vaginal de vacas saudáveis (NASCIMENTO, 2015). Rodrigues et al. (2015) analisaram o fundo vaginal de vacas com distúrbios reprodutivos e o percentual identificado de enterobactérias foi maior, indicando uma possível proliferação dessas bactérias na região, que devido a uma diminuição na imunidade das fêmeas, causou os problemas reprodutivos encontrados. Confirmando isto, McClure (2018) afirmou que a principal causa de infecções no trato genital é devido à ascensão de microrganismos de potencial patogênico.

Uma possível justificativa para o maior isolamento de enterobactérias no presente estudo, após a remoção dos dispositivos, é que agentes como coliformes podem ter se proliferado na vagina através de algum possível contato com fezes do próprio animal, pois a proximidade anatômica entre o trato digestivo e trato reprodutivo poderia facilitar essa colonização (NASCIMENTO, 2015). Além disso, as vacas, por serem curiosas, podem chegar a lamber ou tentar arrancar os dispositivos uma das outras, através da cauda azul que fica exposta (FISHER-TENHAGEN; VON KRUEGER; HEUWIESER, 2012).

Não houve crescimento microbiano nos dispositivos antes do uso. Porém, após a retirada dos mesmos, houve crescimento microbiano em todos os dispositivos utilizados nas três categorias (nulíparas e primíparas: bactérias Gram negativas, principalmente da família Enterobacteriaceae e pluríparas: bactérias Gram positivas).

Conclusões

Os dispositivos intravaginais de liberação lenta de P_4 aumentam a proliferação de bactérias com potencial patogênico (enterobactérias) no fundo vaginal dos animais. A presença destes facilita a entrada de agentes externos através da cauda azul do dispositivo, que fica exposta no ambiente. A maior susceptibilidade das nulíparas frente a diferentes tipos de microrganismos, e a ascensão especificamente de enterobactérias, pode ser devido à resistência ainda não estabelecida, perante aos agentes que não fazem parte da microbiota nativa.

Agradecimentos

Ao IAPAR pela possibilidade de execução deste projeto.

Referências

FISCHER-TENHAGEN, C.; VON KRUEGER, X.; HEUWIESER, W. Short communication: Evaluation of vaginal discharge following treatment with a progesterone insert. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.8, p.4447–4451, 2012.

GALVÃO, K.N.; SANTOS, J.E.P. Recent advances in the immunology and uterine microbiology of healthy cows and cows that develop uterine disease. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v.38, p.577-588, 2014.

MARTINEZ-ROS, P. et al. Intravaginal device-type and treatment-length for ovine estrus synchronization modify vaginal mucus and microbiota and affect fertility. **Animals (Basel),** v.8, n. 226, p.1-8, 2018.

McCLURE, M.W. **The vaginal microbiome related to reproductive traits in beef heifers**. 2018, 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – University of Arkansas, Estados Unidos da América, 2018.

NASCIMENTO, M.L. **Análise do microbioma vaginal bovino por técnicas dependentes e independentes de cultivo**. 2015, 106 f. Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas – Microbiologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

RAMOS, G.B. **Frequência de microrganismos em conteúdo vulvovaginal de vacas tratadas com dispositivos intravaginais de progesterona**. 2016. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2016.

RODRIGUES, N. F. et al. Qualitative analysis of the vaginal microbiota of healthy cattle and cattle with genital-tract disease. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 2, p. 6518-6528, 2015.

SILVA, V.F. et al. Microbiota cérvico-vaginal de ovelhas mestiças e sua susceptibilidade aos antibióticos. **Pesq. Vet. Bras.,** Rio de Janeiro, v.31, n.7, p.586-590, 2011.

SWARTZ, J.D. et al. Characterization of the vaginal microbiota of ewes and cows reveals a unique microbiota with low levels of lactobacilli and near-neutral pH. **Frontiers in Veterinary Science**, v.1, p.1-10, 2014.