

### UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**DIOGO VIEIRA MOURA** 

ESTUDO QUALITATIVO DA MICROBIOTA BACTERIANA PREPUCIAL DE REPRODUTORES CAPRINOS NO ESTADO DA PARAÍBA

### **DIOGO VIEIRA MOURA**

# ESTUDO QUALITATIVO DA MICROBIOTA BACTERIANA PREPUCIAL DE REPRODUTORES CAPRINOS NO ESTADO DA PARAÍBA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**Orientador:** Professor Doutor Inácio José Clementino.

**Coorientador:** Professor Doutor Felício Garino Júnior.

**AREIA 2020** 

#### Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

M929e Moura, Diogo Vieira.

Estudo qualitativo da microbiota bacteriana prepucial de reprodutores caprinos no estado da Paraíba / Diogo Vieira Moura. - Areia, 2020. 50 f.: il.

Orientação: Inácio José Clementino. Coorientação: Felício Garino Júnior. Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Caprinocultura. 2. Isolamento. 3. Bactérias. 4. Prepúcio. I. Clementino, Inácio José. II. Garino Júnior, Felício. III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

### DIOGO VIEIRA MOURA

ESTUDO QUALITATIVO DA MICROBIOTA BACTERIANA PREPUCIAL DE REPRODUTORES CAPRINOS NO ESTADO DA PARAÍBA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal do Brejo Paraibano.

APROVADA EM 17/02/2020 BANCA EXAMINADORA

Dr. INÁCIO JOSÉ CLEMENTINO

UFPB

Orientador

Dr. ALEXANDRE JOSÉ ALVES

Examinador

Dr. JOSÉ ANDREEY ALMEIDA TELES

Examinador

### Dedicatória

A Deus.

Aos meus pais, Aluísio e Mariberte.

Aos meus irmãos, Aluísio Jr, Marilú e Nathália.

À minha esposa, Dielly, e a minha filha, Heloísa.

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus, fonte de todo amor, pelo dom da vida, por permitir a concretização desta etapa em minha formação profissional, por ser tão misericordioso e perfeito comigo. Obrigado por me fazer forte em situações que pareciam difíceis, por agir favoravelmente quando nem eu mesmo acreditava ser possível. A Ti toda honra e toda glória.

A Maria, minha Mãe, por estar sempre a frente de nossos passos, por nos levar sempre a Jesus.

Aos meus pais, exemplos de pessoas dignas e profissionais excelentes, por incentivarem e acreditarem em meu potencial, por todo aprendizado, valores, suporte e, principalmente, pelo amor incondicional. Vocês são extremamente importantes para mim. A meu pai pelo seu exemplo de pai e profissional, um ser de extrema ética e de honestidade. A minha mãe, uma guerreira, por não medir esforços na nossa formação, a senhora foi e é essencial em minha educação. Amo vocês!

Aos meus irmãos, por todo carinho, ajuda, incentivo, torcida e pelos momentos que me alegraram somente com suas presenças.

As minhas amadas Dielly e Heloísa, meus portos-seguros, pelo carinho, companheirismo, incentivo, torcida e por tornarem meus dias mais leves durante toda esta caminhada. Obrigado por todo amor recebido em momentos que vocês nem imaginavam que estava sendo difícil. Com vocês, tenho os melhores momentos da minha vida. Amo vocês!

A minha sobrinha Letícia Maria, por ser tão doce, amável e agradável comigo.

A Vovó Maria Vieira (*in memorian*) e tia Mazé, por todo carinho, incentivo e torcida em todos os momentos de minha vida.

Ao professor Inácio pela confiança, orientação e pelas conversas produtivas e essenciais para a realização deste trabalho. Ao professor Felício, por transmitir um pouco do seu vasto conhecimento, pelas abordagens e metodologias sugeridas para este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCAN), em nome de Jozênio, grande amigo, e do professor Ricardinho, pelo apoio, oportunidade e recursos dispensados para que este estudo pudesse ser executado da melhor forma possível.

Aos professores do PPGCAN, pelos aprendizados e conhecimentos compartilhados.

A todos que fazem o Hospital Universitário Veterinário/CCA/UFPB, na pessoa do superintendente professor Felipe Nael, pela grande escola e suporte que me propiciaram na realização desta pesquisa.

Ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, por todo suporte e disponibilidade de reagentes, materiais, equipamentos e estrutura, assegurando assim a parte experimental e a todos que fazem este setor. Ao professor Artur, pela colaboração nas coletas, além do incentivo e apoio durante essa caminhada. As técnicas Ana, pelo apoio e colaboração, e a Sara, pela amizade, ajuda e participação no processamento do material e na elaboração desse manuscrito. Aos residentes Débora, Iolanda, Cláudio, Henrique e Vinicius, pelo auxílio e colaboração nas análises.

Aos amigos Temístocles, pelo incentivo, Edglay, pelas caronas, Anderson, pelo apoio e disponibilidade nas coletas de sangue e Rômulo e Diego, pela ajuda na construção deste trabalho.

A Rubeilson, Uiraí, Clebson e Paulo, pela disponibilidade e apoio durante a realização das coletas de material em campo.

Aos estagiários Ewerton, Luís Fernando e Raphael, pelo apoio e participação no processamento do material.

Aos produtores e criadores de caprinos, pela aceitação e disponibilidade de ajudar na realização desse estudo.

Aos animais, por fazerem parte decisivamente deste trabalho.

À banca por fazer parte desta defesa, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

A todos que, por atos, gestos ou palavras, me ajudaram a chegar aqui.

#### **RESUMO**

No Brasil, a caprinocultura apresenta grande importância social e econômica para populações rurais, principalmente, na Região Nordeste. O desempenho produtivo, porém, é insatisfatório, em consequência do baixo emprego de tecnologias, bem como o ineficiente manejo sanitário reprodutivo pode resultar em graves consequências na produtividade dos rebanhos. Infecções, bacterianas, podem causar subfertilidade ou infertilidade. As espécies da microbiota normal têm papel relevante tanto na manutenção da saúde, como na possibilidade de causar doenças. Essas são capazes de se tornarem patogênicas em condições errantes ou em situações de imunossupressão. Ademais, a ausência da flora bacteriana normal do prepúcio pode facilitar o estabelecimento de infecções oportunistas por patógenos de importância clínica. Alguns trabalhos têm descrito a microbiota bacteriana presente no prepúcio de animais, entretanto, há poucas publicações sobre a microbiota prepucial em caprinos. Em face dos escassos dados, este estudo objetivou descrever, por meio do isolamento e identificação, as bactérias que habitam o prepúcio de reprodutores caprinos das mesorregiões Agreste Paraibano e Borborema do estado da Paraíba, Brasil. Amostras da cavidade prepucial de 40 caprinos foram coletadas e analisadas microbiologicamente. Os resultados demonstraram crescimento bacteriano em todos os swabs prepuciais. com isolamento de 81 tipos bacterianos pertencentes a 16 gêneros e 26 espécies diferentes. As bactérias mais prevalentes foram Bacillus spp. (28,4%), Citrobacter sp. (9,9%), Corynebacterium sp. (7,4%), Staphylococcus sp., Klebsiella sp. e Streptococcus spp. (4,9% cada), Staphylococcus lutrae e Tatumella spp. (3,7% cada). Os resultados divergiram dos encontrados na escassa literatura existente e evidenciaram uma boa diversidade de bactérias da microbiota prepucial desses animais. Apesar da maioria das bactérias isoladas ser considerada comensal, várias podem ser patogênicas oportunistas em condições favoráveis.

Palavras-chaves: caprinocultura, isolamento, bactérias, prepúcio.

#### **ABSTRACT**

In Brazil, goat livestock has social and economic importance for rural populations, mainly in the Northeast region. The productive performance, however, is unsatisfactory, due to the low use of technologies, as well as the inefficient reproductive health management. This is can result in serious consequences in the productivity of the herds. Infections, especially bacterial infections, can cause subfertility or infertility. Normal microbiota species are important in maintaining health and in the possibility of causing disease. These are capable of becoming pathogenic in errant conditions or in situations of immunosuppression. In addition, the absence of normal bacterial flora in the prepuce may facilitate the establishment of opportunistic infections by pathogens of clinical importance. Some studies have described the bacterial microbiota present in the prepuce of animals, however, there are very few publications on the prepuce microbiota in goats. To detriment of the scarce data, the objective of this study was to describe, through isolation and identification, the bacteria that inhabit the prepuce of goat breeders in the Agreste Paraibano and Borborema regions of the state of Paraíba, Brazil. Samples from the preputial cavity of 40 goats were collected and analyzed microbiologically. The results showed bacterial growth in all prepositional Swabians, the 81 isolates found belong to 16 genera and 26 different species. The most prevalent bacteria were Bacillus spp. (28.4%), Citrobacter sp. (9.9%), Corynebacterium sp. (7.4%), Staphylococcus sp., Klebsiella sp. and Streptococcus spp. (4.9% each), S. lutrae and Tatumella spp. (3.7% each). The results differed from those found in the literature and showed a good diversity of bacteria from the prepuce microbiota of these goats. Although most of the isolated bacteria are considered commensal, several can be opportunistic pathogens under favorable conditions.

**Keywords:** goat farming, isolation, bacteria, prepuce.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1		
Figura 1 –	Aparelho reprodutor masculino de caprino	18

# LISTA DE GRÁFICOS

Capítulo 1	
Gráfico 1 - Percentual do efetivo caprino distribuído por região brasileira	16

# LISTA DE TABELAS

Cap	ίtι	ald	2
-----	-----	-----	---

Tabela 1 – Bactérias isoladas de acordo com a coloração e frequência absoluta
de número de isolamentos, gêneros e espécies bacterianas de reprodutores
caprinos no estado da Paraíba, entre 2018 a 201947
Tabela 2 - Bactérias isoladas da cavidade prepucial de reprodutores caprinos no
estado da Paraíba de acordo com o gênero, espécie e frequência de isolamento
entre 2018 a 201948

# **LISTA DE ANEXOS**

Anexo I -	Certificado de aprovação CEUA/UFPB	50
-----------	------------------------------------	----

# SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES INICIAIS	13
CAPÍTULO 1	15
1. REVISÃO DE LITERATURA	16
1.1 CAPRINOCULTURA NO NORDESTE BRASILEIRO	16
1.2 ASPECTOS GERAIS DO PREPÚCIO EM ANIMAIS DOMÉSTICOS	17
1.3 MICROBIOTA BACTERIANA EM MAMÍFEROS	18
1.4 COLONIZAÇÃO BACTERIANA EM PREPÚCIO	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO 2	30
RESUMO	31
ABSTRACT	32
INTRODUÇÃO	33
MATERIAL E MÉTODOS	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
ANEXO 1	50

## **CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

Desde sua domesticação há cerca de 10.000 anos, a espécie caprina vem conquistando papel cada vez mais relevante na criação de animais de produção (FERREIRA; FONSECA, 2015). Segundo Silva (2018), a caprinocultura, no Brasil, é de fundamental importância socioeconômica para populações rurais, além de desempenhar um importante papel social na agricultura familiar de subsistência.

A criação de pequenos ruminantes revela-se como uma atividade relevante no Semiárido brasileiro, uma vez que a região nordestina dispõe de condições favoráveis para a exploração desses animais. Tais condições se dão ora pela rusticidade dos mesmos, que lhes possibilitam superar elevados períodos de carência de pastagens e adversidades climáticas, ora pela combinação correta entre os seus hábitos alimentares e a flora presente na região, somado ao conhecimento tácito obtido ao longo de décadas pelos produtores nordestinos (SOUSA NETO, 2016).

No Brasil, a exploração de caprinos desempenha também um papel social e econômico para populações rurais, sobretudo na região Nordeste (SILVA, 2018). Entretanto, o desempenho produtivo é insatisfatório, em consequência do baixo emprego de tecnologias, associados à alimentação, ao manejo e à sanidade. Adicionalmente, em um estudo sobre a epidemiologia da caprinocultura no estado do Ceará, Pinheiro et al. (2000) concluíram que a maioria da criação de caprinos no estado era de subsistência com manejo sanitário precário e alta mortalidade, principalmente de animais jovens, comprometendo a atividade produtiva. Ainda concluíram que, mesmo em criatórios mais tecnificados, não existia preocupação com higiene.

Nesse sentido, o conhecimento de agentes infecciosos e parasitários da esfera reprodutiva é de grande relevância devido às perdas econômicas ocasionadas e a eventualidade de transmissão de alguns agentes para os seres humanos (BATISTA, 2012). Conforme Carvalho Júnior et al. (2010), as infecções bacterianas e virais podem afetar vários órgãos de um animal, até mesmo o sistema reprodutivo, acarretando subfertilidade ou infertilidade.

Dentre as doenças que podem acometer o sistema reprodutor de caprinos, destacam-se a clamidofilose, a brucelose, a toxoplasmose, a neosporose e a

leptospirose (BATTA et al., 1996; VERMA et al., 2000; RIET-CORREA, 2007, BATISTA, 2012).

De acordo com o Censo Agropecuário 2017, o rebanho caprino no Brasil foi estimado em cerca de 8,25 milhões de animais, com mais de 92% desse efetivo localizado na região Nordeste do país. Nessa região, a Paraíba ocupa o quinto lugar entre os estados com maior efetivo, com 545.994 cabeças de caprinos, as quais se concentram principalmente no Cariri do estado, sendo o município de Monteiro o de maior rebanho com 27 mil cabeças (IBGE, 2018). O rebanho mundial de caprinos era da ordem de 1,03 bilhão de cabeças (FAO, 2018).

Nesse cenário, com propósito de assistir melhor a produtividade dos caprinos, quer seja para viabilizar o aumento da habilidade reprodutiva e/ou produtiva dos rebanhos, quer seja para a multiplicação mais eficiente dos genótipos, merece uma atenção especial o conhecimento da microbiota prepucial desses animais. Como esclarece Mota et al. (2010), as espécies da microbiota normal assumem papel relevante tanto na manutenção da saúde, quanto na possibilidade de causar doenças. Esses microrganismos podem constituir um mecanismo de defesa do hospedeiro impedindo a multiplicação de outros patógenos em seus compartimentos ecológicos. Caso a microbiota normal seja suprimida, os patógenos podem desenvolver-se e ocasionar enfermidades.

Esta pesquisa tem como intuito identificar as bactérias presentes no aparelho reprodutor de caprinos oriundos de criadores do estado da Paraíba, Brasil. Dessa forma, esse estudo objetivou caracterizar, por meio de isolamento e identificação, as bactérias que habitam o prepúcio desses animais.

# **CAPÍTULO 1**

Microbiota normal: bactérias presentes no prepúcio de animais de produção

(REVISÃO DE LITERATURA)

### 1 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Caprinocultura no Nordeste brasileiro

Explorada economicamente em todos os continentes, a caprinovinocultura é uma atividade realizada em diversos ecossistemas com os mais variados tipos de clima, solo, topografia e vegetação. Contudo, em países como o Brasil, essa prática é desenvolvida, em sua maioria, de forma empírica e extensiva, com pequenos níveis tecnológicos e resultados zootécnicos (BATISTA, 2012).

No Brasil, em conformidade com o último Censo Agropecuário, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, existem 8.254.561 cabeças de caprinos, um acréscimo de 16,1% do rebanho caprino em relação a 2006 (IBGE, 2018; EMBRAPA, 2018), distribuídos por região conforme o gráfico 1.

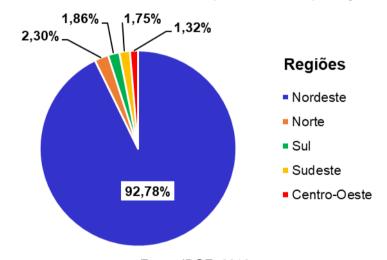


Gráfico 1 – Percentual do efetivo caprino distribuído por região brasileira

Fonte: IBGE, 2018.

Como observado, o Nordeste concentra mais de 7,6 milhões (92,78%) do rebanho caprino nacional, sendo a Bahia o estado com maior efetivo da federação, com quase 2,4 milhões de cabeças. A Paraíba possui o quinto maior quantitativo caprino brasileiro, com 545.994 cabeças distribuídas em cerca de 31 mil estabelecimentos pecuários, sendo o município de Monteiro o detentor do maior rebanho estadual, com 27.060 cabeças (IBGE, 2018).

Como afirmam Matos Junior et al. (2017), a criação de caprinos, quer para abate, puro sangue ou produção de leite, destaca-se pela sua produtividade e por

sua habilidade adaptativa, sendo uma das culturas mais comuns na região Nordeste do Brasil, principalmente no Cariri paraibano. Além de condições propícias, Holanda Júnior e Martins (2007) destacam a: harmonização aos agroecossistemas do Semiárido, pequena necessidade de capital inicial, capacidade de concentração de renda em pequena escala, alto potencial de geração de ocupações produtivas, fácil apropriação sociocultural e promessa de produtos com forte apelo em mercados novos.

Na região Nordeste, a produção dos rebanhos caprinos e ovinos é muito baixa, as práticas utilizadas na criação representam muito mais uma atividade de subsistência do que precisamente um sistema de produção. Os limitados níveis de produtividade da maioria desses rebanhos são, essencialmente, resultantes da combinação do pequeno tamanho da propriedade, em média 30,4 hectares (EMBRAPA, 2018), da pouca oferta de forragem para os animais durante a estação seca, de um pequeno potencial produtivo dos rebanhos e de práticas pouco apropriadas de manejo alimentar, reprodutivo e sanitário (GUIMARÃES FILHO, 2009).

Além dos aspectos produtivos mencionados, merece destaque a ocorrência de doenças infecciosas e parasitárias na exploração de pequenos ruminantes, uma vez que trabalhos mostram a ocorrência de alta frequência dessas doenças em explorações caprinas no estado do Ceará. Os principais sinais clínicos e lesões presentes nas explorações caprinas do estado foram: anemia e edema de barbela (81,9% dos criatórios), diarreia (78,7%), aborto (75,6%), pododermatite (67,7%), linfadenite (66,9%), ectoparasitoses (63,8%), mamite (51,2%), pneumonia (44,9%), lesões vesiculares de pele (35,4%), ceratoconjuntivite (29,1%), problemas de ordem nervosa (26,8%), malformação fetal (15%), criptorquidismo (11%), prolapso de vagina/útero (11%) e artrite (8,7%) (PINHEIRO et al., 2000).

### 1.2 Aspectos gerais do prepúcio em animais domésticos

Segundo Rodrigues (2010), os componentes funcionais principais do sistema reprodutor masculino dos animais domésticos são testículos, uma sequência de ductos para transporte do sêmen (túbulos retos, rede testicular, ductos eferentes, ducto epididimário, ducto deferente, uretra prostática, uretra peniana), epidídimos,

glândulas sexuais acessórias compreendendo a ampola do ducto deferente, glândulas vesiculares, próstata e glândulas bulbouretrais e pênis. A pele que reveste o testículo é o escroto e a que reveste o pênis é o prepúcio (Figura 1).

Figura 1 – Aparelho reprodutor masculino de caprino. Vesícula urinária, Reto Próstata Glåndulas vesiculares Glåndula bulbouretral Músculo cremaster Ducto deferente. Testiculos Flexura sigmóide ou Processo uretral "S" peniano do pênis ou apêndice vermiforme Glande Epidídimo Prepúcio Bolsa escrotal

Fonte: Granados, 2006.

O prepúcio ou bainha prepucial é uma prega tubular de tegumento constituída por uma camada externa (lâmina externa), contínua com o tegumento geral, e uma camada interna (lâmina interna) voltada para a extremidade livre do pênis. Essa lâmina interna, quando o pênis está retraído (ou flácido) forma a cavidade prepucial. Tanto a camada interna como a mucosa peniana não possuem pelos, mas são comumente bem providas de glândulas secretoras de esmegma e tecido linfoide. No macho, o pênis e a lâmina interna dos recém-nascidos são fundidos e a separação é alcançada gradualmente antes da puberdade. Durante a ereção, o prepúcio é suficientemente frouxo, possibilitando reversão da lâmina interna, após a protusão do pênis através do orifício prepucial (DYCE; SACK; WENSING, 2019).

O prepúcio é uma prega retrátil de pele composto por tecido conjuntivo com músculo liso em seu interior. Glândulas sebáceas são encontradas na dobra interna e na pele que reveste a glande (JUNQUEIRA, 2018). O prepúcio tem como funções cobrir e proteger o pênis e a glande (SORRIBAS, 2006; ROLIM, 2014).

### 1.3 Microbiota bacteriana em mamíferos

O estudo da microbiota é de grande valia na medicina veterinária, visto que possibilita o conhecimento de microrganismos potencialmente patogênicos. Ademais, amostras obtidas para exame microbiológico podem ser contaminadas, no momento da colheita, por componentes da microbiota. Por conseguinte, a interpretação de resultados para esse tipo de exame necessita de conhecimentos relativos à composição da microbiota de locais específicos do organismo, à característica do material obtido e ao método de colheita do espécime (MOURÃO; MAGALHÃES; MENDES, 2005).

Os mamíferos são comumente livres de microrganismos quando estão no útero. Ao nascimento, todavia, comunidades microbianas normais e peculiares começam a se estabelecer (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Recentemente, em humanos, foram identificadas espécies e gêneros bacterianos não patogênicos comensais habitando o tecido placentário, bem como uma diversidade de microrganismos residindo no útero de mulheres saudáveis e assintomáticas, em idade reprodutiva. O microbioma do útero diferencia-se consideravelmente daquele da vagina e do trato gastrointestinal (RIEDEL et al., 2019).

Nos animais e em humanos saudáveis os tecidos internos (tais como cérebro, sangue e músculos) são, normalmente, livres de microrganismos. Contudo, os tecidos da superfície, como pele e mucosas, estão frequentemente expostos a microrganismos ambientais e tornam-se imediatamente colonizados por diferentes espécies microbianas. O conjunto de microrganismos encontrados regularmente em qualquer sítio anatômico, mantendo uma relação de homeostase, é designado microbiota normal, microbiota indígena, microflora ou flora normal (TLASKALOVA et al., 2004; TODAR, 2006; WILLEY et al., 2013).

Esse complexo de micróbios compreende bactérias, fungos, vírus e outras espécies microbianas, viabilizando capacidade enzimática e possui um papel indispensável no controle de muitos aspectos da fisiologia do hospedeiro, bem como, participa na digestão de nutrientes essenciais, na estimulação do sistema imunológico, nos efeitos sistêmicos dos lipídios do sangue e na inibição de bactérias nocivas (McFARLAND, 2000; BELKAID; HAND, 2014). A área da imunologia, vem sendo revolucionada pela crescente assimilação do papel fundamental da microbiota na indução e função do sistema imunológico de mamíferos (BELKAID; HAND, 2014).

Para Levinson (2016), os componentes da flora normal podem causar doenças, particularmente, em indivíduos imunocomprometidos e debilitados. Embora esses

organismos sejam comensais em sua localização anatômica habitual, eles podem ser patogênicos em outros sítios do corpo. As bactérias residentes ocupam lugares de fixação na pele e mucosa que podem intervir na colonização por bactérias nocivas, a essa capacidade dos integrantes da flora normal de limitar o crescimento de patógenos dá-se o nome de resistência à colonização.

Em conformidade com Riedel et al. (2019), a microbiota pode ser classificada em dois grupos: (I) a microbiota residente, formada por categorias relativamente fixas de microrganismos regularmente achados em uma certa área em uma determinada idade; reestabelecendo-se prontamente, se provocada; e (II) a microbiota transitória, constituída por microrganismos não patogênicos ou potencialmente patogênicos que coabitam locais do corpo por horas, dias ou semanas. Proveniente do meio ambiente, a microbiota transitória não produz doenças e não se estabelece de forma permanente. Contudo, na hipótese de a microbiota residente ser perturbada, microrganismos transitórios podem colonizar, proliferar e acarretar enfermidades.

Segundo Smith, McCoy e Macpherson (2007), Pasteur estava correto de que os organismos microbianos são imprescindíveis para a saúde dos mamíferos, visto que animais livres de germes são funcionalmente imaturos em muitos sistemas, incluindo morfologia intestinal, função absorvente, metabolismo biliar, motilidade intestinal, enteroendócrina e exócrina. Além disso, a função do sistema imunológico em resposta à imunização, tolerância ou infecção sistêmica por patógenos virais é alterada nesses animais.

As espécies que formam a microflora normal de regiões, tais como cavidade oral, trato urogenital, além de conjuntiva e pele saudáveis podem variar, de indivíduo para outro, por causa de fatores relativos as diferenças fisiológicas, como pH, muco, temperatura, de dieta, de idade e habitat, sendo capaz de se tornarem patogênica em condições errantes ou em situações de imunossupressão (RAMASWAMY; ANDREW; ROY, 1991; SILVA, 2012). Muitos fatores físicos e químicos, entre os quais: a disponibilidade de oxigênio e dióxido de carbono, a salinidade e a luz solar interferem no crescimento dos microrganismos e, portanto, na composição e no crescimento da microbiota normal (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

A ausência da flora bacteriana normal da cavidade prepucial pode favorecer ao estabelecimento de infecções oportunistas por patógenos de importância clínica (PARKINSON; McGOWAN, 2019). A compreensão sobre microbiota e infecção vem avançando rapidamente em humanos, entretanto, pouquíssimo se conhece sobre como a composição da microbiota animal influencia as infecções animais (VIDGEN; HANGER; TIMMS, 2017).

Alguns trabalhos têm descrito a microbiota bacteriana presente no prepúcio de animais, dentre os quais podemos elencar carneiros (GOULETSOU et al., 2006; DAHER; ISMAEEL; NOOMI, 2018), touros (WICKWARE; JOHNSON; KOZIOL, 2019), lhamas e alpacas (JARVINEN; KINYON, 2010), dromedários (SERIN et al., 2010), cães (LUZ et al., 2017; GUIDO et al., 2007), gatos (RIBEIRO et al., 2003), javalis (LESSA et al., 2011), catetos (SANTOS et al., 2017), lobos-guará (MOTTA et al., 2013) e macacos-da-noite (SILVA, 2012). Entretanto, há poucas publicações sobre a microbiota prepucial de caprinos, sobre a qual foram encontrados apenas dois trabalhos, um no Rio de Janeiro (GOMES, 2006) e outro no Iraque (AL-DELEMI; KARAM; JAFAR, 2009).

Estudando a composição da microbiota do prepúcio de 92 touros, Wickware, Johnson e Koziol (2019), identificaram bactérias pertencentes, entre outros, aos seguintes gêneros: *Bacillus, Escherichia, Fusobacterium, Histophilus, Mycoplasma, Porphyromonas* e *Streptobacillus*.

Ao pesquisar a flora prepucial de 17 lhamas e 13 alpacas, Jarvinen e Kinyon (2010) descreveram, em lhamas, dentre as mais frequentes bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas: *Bacillus, Pseudomonas, Streptococcus, Staphylococcus epidermidis, Arcanobacterium pyogenes e Corynebacterium.* Nas alpacas foram isolados: *Bacillus, Micrococcus, Corynebacterium bovis, Staphylococcus, Streptococcus, Actinomyces, Corynebacterium e Mannheimia haemolytica.* 

Avaliando a flora bacteriana do prepúcio de 20 dromedários, Serin et al. (2010) identificaram: Serratia liquifaciens, Staphylococcus aureus, Streptococcus sp., Klebsiella ozaenae, Pseudomonas sp., Shigella sp., Enterobacter cloacae, Flavobacterium sp., Actinomyces sp., Acinetobacter sp., Acinetobacter calcoaceticus e Bacillus sp.

Ao investigarem amostras de secreção prepucial de 80 cães, Luz et al. (2017) isolaram 94 bactérias, sendo as mais frequentes: *Staphylococcus pseudintermedius*,

Streptococcus β-hemolítico, Escherichia coli, Staphylococcus sp. e Staphylococcus aureus. Achados semelhantes ao de Guido et al. (2007) que identificaram, como mais frequentes, Staphylococcus spp., Streptococcus spp., seguidos por Escherichia coli e Bacillus spp.

Ribeiro et al. (2003), ao analisarem 20 amostras de mucosa prepucial de felinos domésticos, conseguiram isolar *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus* spp (*S. epidermidis* e *S. saprophyticus*), *Streptococcus faecalis* e *Yersinia* sp.

Ao avaliar amostras prepuciais de 24 javalis, Lessa et al. (2011) isolaram Enterococccus, Staphylococcus, Lactococcus lactis lactis, Aerococcus viridans, Bacillus, Pseudomonas spp., Aeromonas, Klebsiella spp., Pantoea spp., Cedecea spp., Enterobacter spp., Escherichia coli e Serratia spp.

Motta et al. (2013), pesquisando sobre a microbiota, identificaram no prepúcio de 8 lobos-guará brasileiro *Escherichia coli, Proteus vulgaris, Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Proteus mirabilis*.

Silva (2012), ao trabalhar com 60 amostras do prepúcio de 15 macacos-danoite, conseguiu descrever entre as bactérias gram positivas, mais presentes: Staphylococcus intermedius. Aerococcus viridans. Staphylococcus Staphylococcus warneri, Staphylococcus arlettae, Staphylococcus urealyticus, Gemella bergeri e Kocuria rosea. Dentre as bactérias gram negativas mais recorrentes encontradas foram Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes e Morganella morganii.

Santos et al. (2017), em estudo realizado com 5 catetos machos, isolaram dezessete colônias bacterianas nas amostras de prepúcio sendo o gênero bacteriano mais frequente o *Corynebacterium* spp., seguido de *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* sp.

Analisando o prepúcio de 28 carneiros jovens e 28 carneiros adultos, Daher, Ismaeel e Noomi (2018), isolaram nos jovens: *Staphylococcus* spp. *Escherichia coli, Streptococcus pyogenes, Proteus mirabillis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Nos adultos o isolamento foi de: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Streptococcus pyogenes, Proteus mirabillis, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae* e *Brucella melitensis*. Também, em ovinos, Gouletsou et al. (2006), examinando o prepúcio de 48 carneiros saudáveis, identificaram *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (*S. epidermidis, S. simulans, S. caprae, S. xylosus* e *Staphylococcus* spp.), *Bacillus* spp. (*B. licheniformis* e *Bacillus* spp.), *Clostridium* spp., *Escherichia coli*,

Arcanobacterium pyogenes, Micrococcus roseus, Corynebacterium glucuronolyticum, Staphylococcus aureus, Streptococcus spp. (S. uberis e Streptococcus spp.), Pasteurella multocida e Actinobacillus lignieresii.

Deve-se destacar que a *B. melitensis* isolada no prepúcio de carneiros adultos por Daher, Ismaeel e Noomi (2018) é uma bactéria patogênica e a principal causa de brucelose caprina e ovina, causando graves perdas econômicas nas regiões endêmicas (OIE, 2004). No entanto esta bactéria ainda não foi identificada no Brasil (POESTER; GONÇALVES; LAGE, 2002).

Actinobacillus seminis tem sido relatado como habitante natural da mucosa prepucial de borregos, podendo atuar como patógeno oportunista causando epidimite e orquite primária nesses animais. Histophilus somni também foi relatado como microrganismo residente na mucosa prepucial de carneiros também considerado patógeno oportunista (MOUSTACAS et al., 2014).

Avaliando amostras oriundas do prepúcio de 2 reprodutores caprinos, Gomes (2006) isolou *Escherichia coli*, *Micrococcus* spp., *Listeria* spp., *Staphylococcus* aureus aureus, *Hafna álveo*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, *Bacillus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Enterobacter aglomerans*, *Lactobacillus* spp. e *Pseudomonas alcalinigenes*. Al-Delemi; Karam e Jafar (2009), ao analisarem a cavidade prepucial de 50 caprinos, identificaram em 72% de culturas positivas: *Escherichia coli* (34,88%), *Staphylococcus aureus* (23,25%), *Streptococcus pyogenes* (18,6%), *Klebsiella pneumoniae* (6,97%), *Actinomyces pyogenes* (4,65%), *Streptococcus faecalis* (4,65%), *Pasteurella* spp. (2,32%), *Proteus mirabilis* (2,32%) e *Pseudomonas aeruginosa* (2,32%).

A bactéria H. somni também pode ser considerada componente da microbiota colonizando superfícies mucosas de caprinos podendo atuar como patógeno oportunista e a infecção pode resultar em epididimite e outras manifestações clínicas (MOUSTACAS et al., 2015).

Santos et al. (2014), na Paraíba, isolaram o *Actinobacillus seminis* do sêmen de caprino com orquite e epididimite, sugerindo que esse agente pode ser a causa de infertilidade em caprinos e a fonte de infecção nas criações consorciadas de caprinos e ovinos, comuns no Nordeste do Brasil.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-DELEMI, D. H. J.; KARAM, K. M.; JAFAR, A. M. The normal bacterial flora in the prepucal cavity of Iraqi bulls, rams and bucks. **Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences**., University of Fallujah, v.2, p.74-81, July 2009.

BATISTA, C. S. A. Avaliação epidemiológica de agentes infecciosos e parasitários da esfera reprodutiva em caprinos leiteiros do semiárido da Paraíba. 2012. Tese (doutorado) — Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

BATTA, M. K.; SHARMA, M.; ASRANI, R. K.; KATOCH, R. C.; JOSHI, V. B. Investigations on abortion outbreaks in migratory sheep and goats of Himachal Pradesh. **Indian Veterinary Journal.**, v.73, p.452-454, 1996.

BELKAID, Y.; HAND, T. W. Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. **Cell.**, v. 157, p. 121-141, Mar. 2014.

CARVALHO JÚNIOR, C. A. et al. Agentes infecciosos que podem promover infertilidade em machos da espécie ovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**., Belo Horizonte: v.34, n.3, p.160-167, jul./set. 2010.

DAHER, N. N.; ISMAEEL, M. A.; NOOMI, B. S. Bacterial Contamination of Prepuce in Young and Adult Rams in Salahaddin Province. **Tikrit Journal for Agricultural Sciences.**, v.18, n. 4. May 2018.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomiaveterinária.** 5. ed. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro: Elsevier, 2019. 872 p.

EMBRAPA. Boletim do Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos, **Embrapa Caprinos e Ovinos**., Sobral, CE, jul. 2018. Disponível em: <a href="https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br">https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br</a>>. Acesso em 11 out. 2019.

FAO. FAOSTAT. **Production live animals**. Disponível em: <://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>. Acesso em: 10 out. 2019.

FERREIRA, M. I. C.; FONSECA, J. F. da. 12° Workshop sobre produção de caprinos na região da Mata Atlântica: uma visão histórica. *In*: 12° Workshop sobre Produção

de Caprinos na Região da Mata Atlântica, 12., 2015, Coronel Pacheco. **Anais [...]**. Coronel Pacheco: 2015. p. 12.

GOMES, M. C. **Microbiota vaginal de cabras nas fases do proestro, pós-cópula e pós-parto.** 2006. Dissertação (mestrado) — Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

GOULETSOU, P. G. et al. Isolation of *Arcanobacterium pyogenes* from the scrotal skin and the prepuce of healthy rams or from ramswith testicular abnormalities. **Small Ruminant Research.**, v.63, p. 177–182, May 2006.

GRANADOS, L. B. C.; DIAS, A. J. B.; SALES, M. P. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**., 1º ed. Campos dos Goytacazes, RJ. 2006.

GUIDO, M. C.; FERRACIÚ, P. R.; GRYCAJUK, M. C. H.; MOREIRA, M. A. B. Microbiota prepucial de cães sem alteração reprodutiva ou prostática. *In*: XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2007, Curitiba, PR. **Anais[...]**., Belo Horizonte, MG: CBRA, 2007. p. 93.

GUIMARÃES FILHO, C.; ATAÍDE JÚNIOR, J. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas- SEBRAE. **Manejo básico de ovinos e caprinos: guia do educador**., Brasília, DF, 2009.

HOLANDA JÚNIOR, E. V.; MARTINS, E. C. Análise da produção e do mercado de produtos caprinos e ovinos: o caso do território do sertão do Pajeú em Pernambuco. **EMBRAPA**. Sobral, CE, 2007. Disponível em:

<a href="https://www.ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPC/20627/1/94.pdf">https://www.ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPC/20627/1/94.pdf</a>. Acesso em: 11 out. 2019.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2017**: Resultados preliminares., Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 7, p. 1-108, 2018.

JARVINEN, J.; KINYON, J. Preputial microflora ofllamas (Lama glama) and alpacas (Vicugna pacos). **Small Ruminant Research**., lowa, v. 90, p.156-160, May 2010.

JUNQUEIRA, L. C. U. **Junqueira's Basic Histology**: text and atlas. 15. ed. New York: McGraw-Hill, 2018. 576 p.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos:** texto e atlas colorido. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

LESSA, S. S. *et al.* Identification and antimicrobial resistance of microflora colonizing feral pig (*Sus scrofa*) of brazilian Pantanal. **Brazilian Journal of Microbiology**., São Paulo, v. 42. p. 740-749. Apr./June 2011.

LEVINSON, W. **Review of Medical Microbiology and Immunology.** 14. ed. New York: McGraw-Hill, p. 832. 2016.

LUZ, B.B. dos S.; et al. Bacteriologia da secreção prepucial de cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758). *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA, ed. 38. Recife/PE. 2017.

MAIA, M. da S. Tecnologia de sêmen e inseminação artificial em caprinos e ovinos. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE).** In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA., 6.; SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA, 7., 2015, Recife. Saúde animal e produção sustentável no Nordeste: desafios e inovações tecnológicas. Recife: CRMV-PE: SPEMVE, 2015., 2015.

MATOS JÚNIOR, J. J. L. de. et al. Cariri Paraibano: Turismo em Cabaceiras, Pernambuco. **Revista Rosa dos Ventos**- Turismo e Hospitalidade, v.9, n.1. p. 120-132, jan/mar, 2017.

McFARLAND, L. V. Normal flora: diversity and functions. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v.12, n.4, p.193-207, 2000.

MOTA, L. M. et al. Uso racional de antimicrobianos. In: Simpósio: Condutas em enfermaria de clínica médica de hospital de média complexidade - Parte 1. **Medicina**. Ribeirão Preto:v.43, n. 2. p. 164-172. 2010.

MOTTA, O. V. da. et al. Microbiota and anthropic interference on antimicrobial resistance profile of bacteria isolated from Brazilian maned-wolf (Chrysocyon Brachyurys). **Brazilian Journal of Microbiology**., v.44, n.4, p.1321-1326. Mar. 2013.

MOURÃO, P. H. O.; MAGALHÃES, P. P.; MENDES, E. N. Microbiota indígena de seres humanos. **Revista Médica de Minas Gerais**., Belo Horizonte, v.15, n.3, p.177-84. 2005.

MOUSTACAS, V.S. et al. Clinical and Pathological Changes in Rams Experimentally Infected with *Actinobacillus seminis* and *Histophilus somni*. **The Scientific World Journal**., 2014.

MOUSTACAS, V.S. et al. Real-time PCR for detection of *Brucella ovis* and *Histophilus somni* in ovine urine and sêmen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Vetererinária e Zootecnia**., Belo Horizonte, v.67, n.6, p.1751-1755, Nov./ Dec. 2015.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES- OIE. 2004. **Manual de la OIE sobre animales terrestres**. Brucelosis caprina y ovina (no debida a *Brucella ovis*), 2004. Disponível em: < https://www.oie.int/doc/ged/D6509.PDF >. Acesso em: 15 dez. 2019.

PARKINSON, T. J.; McGOWAN. M. Abnormalities Affecting Reproductive Function of Male Animals. In: NOAKES, D. E.; PARKINSON, T. J.; ENGLAND, G. C.W. **Veterinary Reproduction and Obstetrics (Tenth Edition)**. Philadelphia: Saunders, p. 635-668. 2019.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; HADDAD, J.P.A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, vol.52., n.5, p.534-543. 2000.

POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGES, A. P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**., n. 90, p. 55–62, 2002.

RAMASWAMY, V.; ANDREW, M.; ROY, P. Aerobic microbes of cervico-vaginal mucus from repeat breeders bovines and their antibiogram. **Singapore Veterinary Journal**., v. 14-15, p. 60-65, 1991.

RIBEIRO, C. R. et al. Microbiota de mucosa vaginal e prepucial de felinos domésticos clinicamente sadios, da região de Cuiabá-MT. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária.**, v. 10, n. 2, p. 99-102, mai/ago. 2003.

RIEDEL, S.; MORSE, S. A.; MIETZNER, T. A.; MILLER, S. **Jawetz, Melnick, &Adelberg's Medical Microbiology**. 28. ed. New York: McGraw-Hill. p. 880. 2019.

RIET-CORREA, F. Mortalidade perinatal em ruminantes. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. Ed. **Doenças de ruminantes e equídeos**. ed. 3. v. 2. Santa Maria: Palloti, p.455-467. 2007.

RODRIGUES, M. H. Análise morfométrica e funcional do desenvolvimento testicular de caprinos da raça Alpina criados em condições semi-intensivas. 2010. Tese (Doutorado em Ciência Animal) — Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2010.

ROLIM, A. F. M. **Produção animal: bases da reprodução, manejo e saúde**. 1. ed. São Paulo: Érica, 2014. p.136.

SANTOS, C. S. et al. **Análise microbiológica do sêmen e prepúcio de catetos** (*Pecari tajacu*LINNAEUS, 1758) criados em cativeiro no bioma caatinga. *In*: (responsável pelo evento) CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA, 38., Recife, PE. 2017.

SANTOS, F.A. et al. Isolation of Actinobacillus seminis from a goat with clinical epididymo-orchitis in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**., v.45, n.1, p.205-209, 2014.

SERIN, I.; CEYLAN, A.; KIRKAN, S.; PARIN, U. Preputial Bacterial Flora and Antibiotic Susceptibility in Wrestling Dromedary Bulls in Aydin Region of Turkey. **Journal of Animal and Veterinary Advances.**, v.9, p. 482-485, mar. 2010.

SERIN, I.; CEYLAN.; KIRKAN, S.; PARIN, U. Preputial Bacterial Flora and Antibiotic Susceptibility in Wrestling Dromedary Bulls in Aydin Region of Turkey. **Journal of Animal and Veterinary advances.**, v. 9, n.3, p. 482-485, 2010.

SILVA, G. A. da. **Determinação qualitativa da microbiota bacteriana prepucial e vaginal em macacos-da-noite (***Aotus azarai infulatus***) criados em cativeiro.** 2012. Dissertação (mestrado) — Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2012.

SILVA, M. das G. C. M.; DEL VALLE, T. A.; **Produção de caprinos**. Lavras: Editora UFLA, p. 109. 2018.

SMITH, K.; McCOY, K. D.; MACPHERSON, A. J. Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. **Seminars in Immunology19.**, p.59-69. 2007.

SORRIBAS C.E. **Patologias do aparelho reprodutivo**. In: Atlas de reprodução canina. São Caetano do Sul: Interbook Com. Imp. Livros Ltda, p.185-200. 2006.

SOUSA NETO, J. M. de. Caracterização dos sistemas de produção da ovinocaprinocultura no nordeste brasileiro. 2016. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2015.

TLASKALOVA, H. H. et al. Commensal bactéria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. **Immunology Letters.**, v. 93, n. 2-3, p. 97-108, 2004.

TODAR, K. "The Normal Bacterial Flora of Humans", 2006. Disponível em: <a href="http://www.textbookofbacteriology.net/normalflora.html">http://www.textbookofbacteriology.net/normalflora.html</a>. Acesso em: 12 nov 2019.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VERMA, S.; KATOCH, R. C.; SHARMA, M.; NIGAM, P. Abortions and infertility in domestic livestock due to brucellosis in Himachal Pradesh, India. **VeterinarskiArhiv.**, v.70, n.2, p.75-82, 2000.

VIDGEN, M.E.; HANGER, J.; TIMMS, P. Microbiota composition of the koala (Phascolarctos cinereus) ocular and urogenital sites, and their association with Chlamydia infection and disease. **Sci Rep.**, v. 7, p. 5239. 2017.

WICKWARE, C. L.; JOHNSON, T. A.; KOZIOL, J. H. Composition and diversity of the preputial microbiota in healthy bulls. **Theriogenology**, 2019.

WILLEY, Joanne M. et al. **Prescott's microbiology.** 9th ed. New York: McGraw-Hill, 2013.

# **CAPÍTULO 2**

Identificação da microbiota bacteriana do prepúcio de caprinos domésticos hígidos

(Artigo submetido – Revista Ciência Rural ISSN: 1678-4596)

31

Identificação da microbiota bacteriana do prepúcio

de caprinos domésticos hígidos

Identification of bacterial microbiota of prepuce

of healthy domestic goats

Diogo Vieira Moura\*1; Paulo Henrique Rocha de Lima1; Sara Caroline Pinto de

Almeida Santos<sup>1</sup>; Ewerton de Souza Lima<sup>1</sup>; José Rômulo Soares dos Santos<sup>2</sup>; Diego

Figueiredo da Costa<sup>1</sup>; Felício Garino Júnior<sup>1</sup>; Inácio José Clementino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva/Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Campus II, Via PB 079, Km12, 58397–000, Areia–PB, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Anatomia Veterinária/Faculdades Nova Esperança, Av. Frei Galvão, 12 - Gramame, 58067-201, João Pessoa-PB, Brasil.

\*Autor para correspondência: Tel.: +55 83 98837 0523

E-mail: diogo@cca.ufpb.br

**RESUMO** 

Objetivou-se verificar, por meio do isolamento e identificação, as bactérias presentes no

prepúcio de reprodutores caprinos das mesorregiões Agreste Paraibano e Borborema do

estado da Paraíba, Brasil. Foram coletadas amostras da cavidade prepucial de 40 caprinos e

analisadas microbiologicamente. A identificação das bactérias foi realizada por meio das

características morfotintoriais e provas bioquímicas. Houve crescimento bacteriano em 100%

dos *swabs* prepuciais, totalizando 81 isolados pertencentes a 16 gêneros e 26 tipos bacterianos

diferentes. As bactérias mais frequentes foram *Bacillus* spp. (28,4%), *Citrobacter* sp. (9,9%),

Corynebacterium sp. (7,4%), Staphylococcus sp., Klebsiella sp. e Streptococcus spp. (4,9%,

cada), Staphylococcus lutrae e Tatumella spp. (3,7%, cada). Esta é a primeira descrição da

microbiota prepucial de caprinos saudáveis, no Brasil. Os resultados obtidos neste trabalho

demonstraram uma elevada diversidade de bactérias da microbiota prepucial desses animais,

evidenciando especialmente microrganismos comensais, porém que podem ser patógenos

oportunistas em condições favoráveis, sendo o gênero *Bacillus* spp. o de maior frequência encontrado. Destaca-se a necessidade de monitorar a microbiota prepucial de reprodutores caprinos e investigar possíveis danos ao sistema reprodutor, visto que alguns desses agentes encontrados conseguem causar problemas reprodutivos, além de que podem se tornar fontes de infecção para fêmeas durante a cópula.

Palavras-chave: caprinocultura, esfera reprodutiva, isolamentos.

#### **ABSTRACT**

The objective was to verify, by means of isolation and identification, the bacteria present in the prepuce of goat breeders from the Agreste Paraibano and Borborema regions of Paraíba state, Brazil. Samples were collected from the preputial cavity of 40 goats and microbiologically analyzed. The identification of bacteria was carried out by means of morphotintorial characteristics and biochemical tests. There was bacterial growth in 100% of the preputial swabs, totaling 81 isolates belonging to 16 genera and 26 different bacterial types. The most frequent bacteria were *Bacillus* spp. (28.4%), *Citrobacter* sp. (9.9%), Corynebacterium sp. (7.4%), Staphylococcus sp., Klebsiella sp. and Streptococcus spp. (4.9%), Staphylococcus lutrae and Tatumella spp. (3.7%). This is the first description of the microbiota present in the preputial cavity of goat breeders in Brazil. The results obtained in this work showed a good diversity of bacteria in the preputial microbiota of these animals, showing especially commensal microorganisms, but that can be opportunistic pathogens in favorable conditions Bacillus spp. was the most commonly found genus. It was necessary to monitor the preputial microbiota of goat breeders and investigate possible damage to the reproductive system, as some of these agents found are able to cause reproductive problems in these animals, in addition to being sources of infection for females during copulation.

**Keywords:** goat farming, reproductive sphere, isolations.

### INTRODUÇÃO

O rebanho mundial de caprinos é da ordem de 1,03 bilhão de cabeças (FAO, 2018). De acordo com o Censo Agropecuário (2017), no Brasil existem 8.254.561 cabeças de caprinos, um acréscimo de 16,1% do rebanho caprino em relação a 2006 (IBGE, 2018; EMBRAPA, 2018). Em 2017, a região Nordeste contava com 7,6 milhões de caprinos, equivalente a mais de 92% do efetivo nacional, a Paraíba com 545.994 cabeças, distribuídas em 31.018 estabelecimentos pecuários, ocupava o quinto lugar do país e o município de Monteiro o detentor do maior rebanho do estado, com 27.060 cabeças (IBGE, 2018).

Embora expressivo, o rebanho caprino brasileiro revela um desempenho produtivo não satisfatório, em consequência do baixo emprego de tecnologias, associados à alimentação, ao manejo e à sanidade. No que diz respeito aos problemas sanitários, o conhecimento de agentes infecciosos e parasitários da esfera reprodutiva é relevante devido às perdas econômicas ocasionadas (BATISTA, 2012), destacando-se a subfertilidade ou infertilidade em decorrência das infecções (CARVALHO JÚNIOR et al., 2010), além da eventualidade de transmissão de alguns agentes para os seres humanos (BATISTA, 2012).

Nesse contexto, o estudo da microbiota é considerável uma vez que as espécies da microbiota normal assumem papel relevante tanto na manutenção da saúde, quanto na possibilidade de causar doenças. Esses microrganismos constituem um mecanismo de defesa do hospedeiro impedindo a multiplicação de outros patógenos em seus compartimentos ecológicos. A essa capacidade da microbiota normal em limitar o crescimento de patógenos dá-se o nome de resistência à colonização (MOTA et al., 2010; LEVINSON, 2016). Caso a microbiota normal seja suprimida, os patógenos podem se desenvolver e ocasionar enfermidades (MOTA et al., 2010).

A ausência da microbiota bacteriana normal da cavidade prepucial pode favorecer ao estabelecimento de infecções oportunistas por patógenos de importância clínica

(PARKINSON & McGOWAN, 2019). A compreensão sobre microbiota e infecção vem avançando rapidamente em humanos, entretanto, pouquíssimo se conhece sobre como a composição da microbiota animal influencia as infecções animais (VIDGEN et al., 2017).

Alguns trabalhos têm descrito a microbiota bacteriana presente no prepúcio de animais, dentre os quais podemos elencar carneiros (GOULETSOU et al., 2006; DAHER et al., 2018), touros (WICKWARE et al., 2019), lhamas e alpacas (JARVINEN & KINYON, 2010), dromedários (SERIN et al., 2010), cães (GUIDO et al., 2007; LUZ et al., 2017) e gatos (RIBEIRO et al., 2003). Com relação à composição bacteriana do prepúcio de caprinos, há poucos trabalhos publicados, destacando-se um no Rio de Janeiro (GOMES, 2006) e outro no Iraque (AL-DELEMI et al., 2009).

Sabendo-se que características ambientais, de manejo e a raça estudada podem influenciar na composição da microbiota prepucial residente, torna-se importante a realização de estudos de isolamento e detecção do agente para melhorar a compreensão da epidemiologia das doenças na espécie caprina. Sendo assim, objetivou-se com esse estudo verificar, por meio do isolamento e identificação, as bactérias presentes no prepúcio de reprodutores caprinos das mesorregiões Agreste Paraibano e Borborema do estado da Paraíba, Brasil.

### MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas em 16 propriedades rurais localizadas nos municípios de Arara, Areia, Bananeiras, Gurjão, Monteiro, São João do Cariri e Serra Branca, situados nas mesorregiões Agreste Paraibano e Borborema do estado da Paraíba, entre os meses de dezembro de 2018 a março de 2019. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva (LMVP) do Hospital Veterinário, Campus II, da Universidade Federal da Paraíba, localizado no município de Areia-PB. Foram incluídos no estudo quarenta (40) caprinos, machos não castrados e sem alterações prostáticas ou

reprodutivas aparentes, utilizados para a reprodução com idade igual ou superior a oito meses, sem raças definidas.

Para a coleta do esmegma prepucial os animais foram previamente contidos e tiveram os pelos da área prepucial externa aparados. Em seguida, foi realizada uma assepsia dessa área com algodão embebido em álcool a 70%. Posteriormente, ocorreu a inserção do *swab* estéril na cavidade prepucial com a finalidade de se coletar o espécime. Imediatamente após a coleta, a amostra foi transportada sob refrigeração, em tubo de ensaio contendo água peptonada, para o LMVP, em que se realizou o semeio em ágar sangue base (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil) enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de ovino e ágar MacConkey (Hi Media Laboratories, Mumbai, India), incubado em condições aeróbicas, a 37°C, sendo realizadas as leituras em 24, 48 e 72 horas.

Após o período de incubação, a identificação das bactérias foi realizada por meio das características morfotintoriais e provas bioquímicas de acordo com QUINN et al. (1999) e JORGENSEN (2015). As provas utilizadas foram: catalase, oxidase, TSI (Triple Sugar Iron Agar), Indol, Motilidade, ureia, vermelho de metila, Voges-Proskauer, citrato, fenilalanina, malonato, gelatina, nitrato, coagulase, DNAse, acidificação dos carboidratos galactose, d-manose, trealose, xilose, lactose, sacarose, glicose, d-manitol e maltose.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que houve crescimento bacteriano em 100% das 40 amostras de *swabs* prepuciais dos reprodutores caprinos investigados. O percentual de isolamentos por amostra de um, dois e três tipos bacterianos foi de 27,5%, 42,5% e 30%, respectivamente, totalizando 81 isolados pertencentes a 16 gêneros e 26 tipos bacterianos diferentes (Tabela 1).

O percentual de isolamentos positivos nesse estudo foi superior aos encontrados no Iraque por AL-DELEMI et al. (2009) em caprinos (72%), ovinos (46%), bovinos (82%) e em ovinos jovens (85,71%) (DAHER et al., 2018), felinos (50%) (RIBEIRO et al., 2003) e caninos (62,3%) (GUIDO et al., 2007). Esse percentual (100%) foi idêntico aos encontrados em ovinos por GONÇALVES et al. (2012) e em ovinos adultos por DAHER et al. (2018). O elevado índice encontrado nessas regiões pode ser justificado pela ausência ou limitações na assistência técnica, as condições de manejo (animais criados juntos, sem separação por sexo e idade), condições nutricionais precárias, criação não tecnificada e alta frequência de troca de matrizes e reprodutores (GUILHERME et al., 2017).

A quantidade de espécies bacterianas diferentes por amostra foi semelhante aos achados por GOULETSOU et al. (2006), que isolaram até três espécies por amostra da cavidade prepucial de ovinos, entretanto estes autores também pesquisaram bactérias anaeróbias o que pode ter superestimado a referida frequência. Em outras espécies, lhamas e alpacas, JARVINEN & KINYON (2010) encontraram de um a sete (média de 4,0 e 3,4, respectivamente) tipos bacterianos por amostra na cavidade prepucial. Nos poucos estudos realizados com reprodutores caprinos (GOMES, 2006; AL-DELEMI et al., 2009), verifica-se que dentre os animais com isolamento positivo também houve amostras com crescimento de mais de um tipo bacteriano. Portanto, além da frequência elevada, houve uma grande quantidade de agentes infecciosos colonizando o prepúcio desses caprinos, que podem causar infecções oportunistas nos mesmos e comprometer o sistema reprodutor, inclusive a qualidade do sêmen.

A diversidade de tipos bacterianos desse estudo foi superior aos achados em caprinos e ovinos no Iraque por AL-DELEMI et al. (2009), ovinos por GOULETSOU et al. (2006) e DAHER et al. (2018), lhamas e alpacas por JARVINEN & KINYON (2010), felinos por RIBEIRO et al. (2003) e caninos por GUIDO et al. (2007). Isso demonstra a ampla

variabilidade na microbiota bacteriana prepucial desses reprodutores caprinos na Paraíba, ao tempo que evidencia a dificuldade no controle e na prevenção dos agentes microbianos encontrados na espécie.

Na tabela 2 são apresentados os resultados das culturas bacterianas das amostras de *swabs* prepuciais dos reprodutores caprinos de acordo com o gênero, espécie bacteriana e frequência encontrada. Foram isolados 81 tipos bacterianos diferentes, sendo os mais frequentes: *Bacillus* spp. (28,4%), *Citrobacter* sp. (9,9%), *Corynebacterium* sp. (7,4%), *Staphylococcus* sp., *Klebsiella* sp. e *Streptococcus* spp. (4,9%, cada), *S. lutrae* e *Tatumella* spp. (3,7%, cada), além de várias outras espécies conforme visto na tabela 2.

Considerando o percentual nos 40 caprinos investigados, o *Bacillus* spp. apareceu em 57,5% dos animais, o *Citrobacter* sp. em 20%, o *Corynebacterium* sp. em 15%, os *Staphylococcus* sp., *Klebsiella* sp. e *Streptococcus* spp. em 10%, cada, os *S. lutrae* e *Tatumella* spp. em 7,5% das amostras examinadas (Tabela 2).

Comparando-se os dados do presente estudo com trabalhos realizados por GOMES (2006), que isolou Escherichia coli, Micrococcus spp., Listeria spp., Staphylococcus aureus aureus, Hafna alveo, Staphylococcus spp. coagulase negativo, Bacillus spp., Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp., Enterobacter aglomerans, Lactobacillus spp. e Pseudomonas alcalinigenes e por AL-DELEMI et al. (2009), que isolaram Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Klebsiella pneumoniae, Actinomyces pyogenes, Streptococcus faecalis, Pasteurella spp., Proteus mirabilis e Pseudomonas aeruginosa, constata-se grande variabilidade em relação aos tipos bacterianos isolados a partir de swabs prepuciais de reprodutores caprinos.

O *Bacillus* spp. isolado com maior frequência nesse trabalho foi encontrado, também, nas duas amostras prepuciais de caprinos avaliadas por GOMES (2006), porém não foi encontrado no prepúcio de caprinos por AL-DELEMI et al. (2009), os quais relataram que

este microrganismo estava entre as menos frequentes de ovinos e bovinos. Essa alta proporção de *Bacillus* spp. foi relatada também no sêmen de caprinos da zona da mata do estado do Pernambuco (SOUZA et al., 2006).

O gênero *Bacillus* é constituído por bacilos gram-positivos formadores de esporos, podendo sobreviver por vários anos no meio ambiente (RIEDEL et al., 2019), os habitats da maioria das espécies são os solos ou ambientes que possam ter sido contaminados, água doce e marinha, ar, fezes, tecidos internos das plantas, lagos e águas subterrâneas (VOS et al., 2009). Assim, por se tratarem de microrganismos ubíquos, a alta prevalência detectada pode ser justificada pela contaminação de origem ambiental.

A maioria das espécies de *Bacillus* não causa doenças, entretanto, existem algumas espécies que provocam doenças importantes nos animais e em seres humanos, a exemplo do *B. anthracis*, causador do carbúnculo hemático animal e do antraz, e o *B. cereus*, responsável por intoxicações alimentares (RIEDEL et al., 2019). No entanto, a porta de entrada desses microrganismos não é a mucosa prepucial, portanto investigações sobre uma possível predileção desse agente ao trato reprodutivo de caprinos é necessária, bem como os seus possíveis efeitos deletérios na fertilidade dessa espécie. Além disso, de acordo com GENOVEZ et al. (2011), os animais frequentemente ao se deitar expõem a mucosa peniana, favorecendo que os microrganismos originários das fezes e do solo possam interferir na microbiota natural da cavidade prepucial e uretra, atingindo o sêmen no momento da colheita do ejaculado.

Os estafilococos foram o segundo maior número de isolamento. Esse gênero é conhecido como o mais presente na cavidade prepucial de outras espécies animais saudáveis, a exemplo de gatos (20%) (RIBEIRO et al., 2003), cães (20% e 46,8%) (GUIDO et al., 2007; LUZ et al., 2017) e carneiros jovens e adultos (28,7%, 85,7% e 100%) (GOULETSOU et al., 2006; DAHER et al., 2018). O *Staphylococcus* spp. foi reportado por SOUZA et al. (2006)

como sendo a bactéria mais prevalente (72%) do sêmen fresco de caprinos. Embora reconhecida como uma bactéria oportunista, seus efeitos nocivos na reprodução são bem conhecidos. Em ovinos, o *Staphylococcus* spp., mais especificamente a espécie *S. aureus*, foi associado à epididimite (GREIG, 2000; OTTER, 2008). É possível que esse problema, também, possa ocorrer nos caprinos, acarretando infertilidade e significativas perdas reprodutivas.

As enterobactérias, que acometem animais e humanos, habitam a microbiota intestinal de inúmeras espécies, podendo causar enterite, infecções dos tratos respiratório inferior ou superior, urinário, bem como infecção de feridas. Além disso, podem estar presentes em diferentes sistemas de animais normais (RIBEIRO et al., 2003).

A Escherichia coli isolada em apenas um animal, difere dos achados de AL-DELEMI et al. (2009), em que 34,88% das bactérias isoladas dos caprinos estudados eram E. coli, sendo igualmente a bactéria mais isolada em ovinos e bovinos. A baixa frequência de isolamento de E. coli no prepúcio de caprinos na Paraíba pode estar relacionada ao sistema de criação desses animais, que, em sua maioria, eram criados de forma extensiva na região, diminuindo a possibilidade de contaminação da cavidade prepucial por fezes. Em ovinos, tanto a Enterobacter cloacae quanto a Escherichia coli foram incriminados como responsáveis por importante redução da motilidade, da velocidade e da viabilidade das células espermáticas (YÁNIZ et al., 2010), o que não se descarta que também possa ocorrer em caprinos.

Os isolamentos de *Mannheimia haemolytica* e *Pasteurella* spp. a partir de amostra de *swabs* prepuciais de reprodutores caprinos na Paraíba são achados interessantes, uma vez que são microrganismos comumente presentes na mucosa do trato respiratório de animais saudáveis (RADOSTITS et al., 2007; RIET-CORREA et al., 2007), em que, após situações de estresse e/ou coinfecção viral, são incriminados como causa de pneumonias (BENESI et al., 2013). Além disso, deve-se destacar que nas propriedades de origem dos caprinos

reprodutores com isolamentos dessas bactérias da cavidade prepucial, a caprinocultura era concomitante com a criação de bovinos, ovinos e equinos, o que pode ter contribuído para a transmissão desses microrganismos interespécie, uma vez que a *M. haemolytica* é considerada uma das principais causas de pneumonias em bezerros (BENESI et al., 2013). Por sua vez, a *P. multocida*, também está associada a problemas respiratórios, causando pneumonia aguda em caprinos (AHMED et al., 2019).

A grande variabilidade de tipos bacterianos isolados a partir de amostras de *swabs* prepuciais de reprodutores caprinos no estado da Paraíba pode ser devido à influência de vários fatores como: raça, troca frequente de reprodutores, condições ambientais, deficiência de manejo higiênico-sanitário e nutricional, além do sistema de criação e carência de assistência técnica. Esses fatores devem ser considerados, tendo em vista que GOMES (2006) observou mudança na composição da microbiota vaginal de cabras e prepucial de bodes antes e após a cópula, o que pode sugerir uma possível transmissão venérea de alguns agentes e, consequentemente, com risco de ocorrência de problemas sanitários nos rebanhos.

### CONCLUSÃO

Essa é a primeira descrição da microbiota presente na cavidade prepucial de reprodutores caprinos saudáveis, no Brasil.

Os resultados obtidos nesse trabalho evidenciaram uma elevada diversidade de bactérias da microbiota prepucial desses animais, revelando especialmente microrganismos comensais, porém que podem ser patógenos oportunistas em condições favoráveis, sendo o gênero *Bacillus* spp. o de maior frequência encontrado.

Ressalta-se a necessidade de investigar se a microbiota prepucial encontrada pode causar danos ao sistema reprodutor dos caprinos, bem como se os mesmos podem ser fontes de infecção para fêmeas durante a cópula.

Estudos buscando descrever e conhecer melhor a microbiota prepucial, incluindo a microbiota microaerófila, anaeróbica e fúngica podem ajudar no aperfeiçoamento de medidas de prevenção e controle para patologias do trato genital em caprinos.

## DECLARAÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE

Sem conflitos de interesse para declarar.

# COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Esse trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB), protocolo nº 2010051018.

## REFERÊNCIAS

AHMED, S. J. et al. Incidence and Antibiotic Susceptibility Profile of *Pasteurella multocida* Isolates Isolated from Goats in Savar Area of Bangladesh. **Agricultural Scinece Digest.**, v. 39, p. 357-360, oct/Dec 2019. Disponível em:<a href="https://arccjournals.com/journal/agricultural-science-digest/D-4917">https://arccjournals.com/journal/agricultural-science-digest/D-4917</a>. Acesso em: Dec. 30, 2019. doi: 10.18805/ag.D-4917.

AL-DELEMI, D. H. J. et al. The normal bacterial flora in the preputal cavity of Iraqi bulls, rams and bucks. **Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences**, University of Fallujah, v.2, p.74-81. 2009.

BATISTA, C. de S. A. Avaliação epidemiológica de agentes infecciosos e parasitários da esfera reprodutiva em caprinos leiteiros do semiárido da Paraíba. 2012. Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2012.

BENESI, F.J. et al. Microbiota bacteriana e citologia da região traqueobrônquica de bezerros no período neonatal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V.33, n.6, p. 700-704, jun. 2013.

Disponível em: <a href="http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000600002">http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000600002</a>> Acesso em: 18 dez, 2019. doi: 10.1590/S0100-736X2013000600002.

CARVALHO JÚNIOR, C. A. et al. Agentes infecciosos que podem promover infertilidade em machos da espécie ovina. **Revista Brasileira Reprodução Animal.**, Belo Horizonte: v.34, n.3, p.160-167, jul./set. 2010.

DAHER, N. N. et al. Bacterial Contamination of Prepuce in Young and Adult Rams in Salahaddin Province. **Tikrit Journal for Agricultural Sciences**, v.18, n. 4. 2018.

EMBRAPA. Boletim do Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos [recurso eletrônico] - n. 7, (dez. 2018) — Dados eletrônicos. Sobral, CE: **Embrapa Caprinos e Ovinos**, 2018. Disponível em: <a href="https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br">https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br</a>. Acesso em 11 out. 2019.

FAO. FAOSTAT. **Production live animals**. Disponível em: <a href="http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA">http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA</a>>. Acesso em: 10 out. 2019.

FERREIRA, M. I. C.; FONSECA, J. F. da. Workshop sobre produção de caprinos na região da Mata Atlântica: uma visão histórica. In: Workshop sobre Produção de Caprinos na Região da Mata Atlântica, 12., 2015, Coronel Pacheco. Anais... Coronel Pacheco: 12ª, 2015. p. 12.

GOMES, M. C. Microbiota vaginal de cabras nas fases do proestro, pós-cópula e pósparto. 2006. Dissertação (mestrado) — Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

GONÇALVES, M. T. C. et al. Teste de susceptibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas do prepúcio de ovinos, aos principais antibióticos utilizados no diluidor seminal. In: VI CONGRESSO NORTE NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, Ciência Animal – Suplemento, 1., 2012, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, 2012. V.22. 488p. p.490.

GOULETSOU, P.G. et al. Isolation of Arcanobacterium pyogenes from the scrotal skin and the prepuce of healthy rams or from rams with testicular abnormalities. Small Ruminant Research., v.63, 177–182. 2006. Disponível em: p. <a href="https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.01.016">https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.01.016</a>. 2019. Acesso em: 18 dez. doi:10.1016/j.smallrumres.2005.01.016.

GREIG, A. Ram infertility. In: **Diseases of Sheep**. 3.ed. Eds W. B. Martin, I. D. Aitken. Oxford, Blackwell Science, 2000. p. 65-70.

GUIDO, M. C. et al. Microbiota prepucial de cães sem alteração reprodutiva ou prostática. *In*: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17., 2007, Curitiba, PR. **Anais...** Belo Horizonte, MG: CBRA, 2007.

GUILHERME, R. F. et al. Characterization and typology of sheep and goat production systems in the state of Paraíba, a semi-arid region of northeastern Brazil. **Semina Ciências Agrárias**., Londrina, v. 38, n. 4, p. 2163-2178, 2017. Disponível em: <a href="http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p2163">http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p2163</a>. Acesso em: 10 nov, 2019. doi:10.5433/1679-0359.2017v38n4p2163.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2017**: Resultados preliminares., Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 7, p. 1-108, 2018.

JARVINEN, J.; KINYON, J. Preputial microflora of llamas (*Lama glama*) and alpacas (*Vicugna pacos*). **Small Ruminant Research**, v. 90, p. 156-160. 2010. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.01.007">https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.01.007</a>. Acesso em: 14 nov, 2019. doi: 10.1016/j.smallrumres.2010.01.007.

JORGENSEN, J. H. et al. **Manual of clinical microbiology.** 11. ed. Washington: ASM Press, 2015. 2 v.

LEVINSON, W. **Review of Medical Microbiology and Immunology.** 14. ed. New York: McGraw-Hill, 2016, p. 832.

LUZ, B.B. dos S. et al. Bacteriologia da secreção prepucial de cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA, 38., Recife, PE. 2017. **Anais...** Recife. CBA, 051p. p.055, 2017.

MOTA, L. M. et al. Uso racional de antimicrobianos. In: Simpósio: Condutas em enfermaria de clínica médica de hospital de média complexidade - Parte 1. Medicina. Ribeirão Preto, SP. **Anais...** Ribeirão Preto. v. 43, n. 2. p. 164-172. 2010.

MOURÃO, P. H. O. et al. Microbiota indígena de seres humanos. **Revista Médica de Minas Gerais.**, Belo Horizonte, v.15, n.3, p.177-84. 2005.

OTTER, A. Bacterial isolates from the semen of rams with suspected infertility. **Veterinary** Research. v. 162, p. 623-624, 2008. Disponível em: <a href="http://dx.doi.org/10.1136/vr.162.19.623">http://dx.doi.org/10.1136/vr.162.19.623</a>. 2019. Acesso em: dez. doi: 10.1136/vr.162.19.623.

PARKINSON, T. J.; McGOWAN. M. Abnormalities Affecting Reproductive Function of Male Animals. In: NOAKES, D. E.; PARKINSON, T. J.; ENGLAND, G. C.W. Veterinary Reproduction and Obstetrics (Tenth Edition)., Philadelphia: Saunders, p. 635-668. 2019. QUINN, P.J. et al. Clínical Veterínary Mícrobíology. London: Mosby, 1999.

RADOSTITS, O.M. et al. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses. 10° ed. Edinburgh: Saunders; 2007.

RIBEIRO, C. R. et al. Microbiota de mucosa vaginal e prepucial de felinos domésticos, clinicamente sadios, da região de Cuiabá-MT. **Revista de Ciência Veterinária**., v. 10, n. 2, p. 99-102, 2003. Disponível em: <a href="http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2015.279">http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2015.279</a>>. Acesso em: 14 nov, 2019. doi: 10.4322/rbcv.2015.279.

RIEDEL, S. et al. **Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology**. 28. ed. New York: McGraw-Hill. 2019. 880 p.

RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e equídeos**. 3. ed. Santa Maria: Palloti, 2007. 1v.

SERIN, I. et al. Preputial Bacterial Flora and Antibiotic Susceptibility in Wrestling Dromedary Bulls in Aydin Region of Turkey. **Journal of Animal and Veterinary Advances.**, v.9, p. 482-485, 2010. Disponível em: < https://medwelljournals.com/abstract/?doi=javaa.2010.482.485 >. Acesso em: 14 nov, 2019. doi: 10.3923/javaa.2010.482.485.

SILVA, M. das G. C. M.; DEL VALLE, T. A. **Produção de caprinos**. Lavras: Editora UFLA, p. 109. 2018.

SOUZA, A. F. et al. Avaliação microbiológica do sêmen fresco e congelado de reprodutores caprinos. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science., São Paulo, v. 2006. Disponível 3, p. 329-336, em: < https: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2006.26480>. Acesso em: 19 dez. 2019. doi: 10. 4456.bjvras.2006.26480.

VIDGEN, M.E. et al. Microbiota composition of the koala (*Phascolarctos cinereus*) ocular and urogenital sites, and their association with Chlamydia infection and disease. **Scientific Reports.**, v. 7, p. 5239. 2017. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-017-05454-2">https://doi.org/10.1038/s41598-017-05454-2</a>. Acesso em: 19 dez, 2019. doi: 10.1038/s41598-017-05454-2.

VOS, P. et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 3: The Firmicutes. 2 ed. 2009.

WICKWARE, C. L. et al. Composition and diversity of the preputial microbiota in healthy bulls. **Theriogenology**., 2019. Disponível em: < https://10.1016/j.theriogenology.2019.11.002>. Acesso em: 04 dez, 2019. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.11.002.

YÁNIZ, J.L. et al. Bacterial contamination of ram semen, antibiotic sensitivities, and effects on sperm quality during storage at 15 °C. **Animal Reproduction Science.**, v. 122, p. 142–149, 2010. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.006">https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.006</a>. Acesso em 19 dez, 2019. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.006.

Tabela 1 – Bactérias isoladas de acordo com a coloração e frequência absoluta de número de gêneros e espécies bacterianas isolados da cavidade prepucial de reprodutores caprinos no estado da Paraíba, entre dezembro de 2018 a março de 2019.

Bactérias isoladas	Números de	Números de	Números de
	isolamentos	gêneros	espécies
Gram Positivas	51	6	13
Gram Negativas	30	10	13
Total	81	16	26

Tabela 2 – Bactérias isoladas da cavidade prepucial de reprodutores caprinos no estado da Paraíba de acordo com o gênero, espécie e frequência de isolamento, entre dezembro de 2018 a março de 2019.

Gênero	Espécie bacteriana	Número e proporção de isolados		% nos 40 caprinos
		nº	%	- examinados
Bacillus		23	28.4	57.5
	Bacillus spp.	23		57.5
Staphylococcus	11	12	14.8	30
	Staphylococcus sp.	4		10
	S. lutrae	3		7.5
	S. hycus	2		5
	S. auriculares	1		2.5
	S. schleiferi	1		2.5
	S. sciuri	1		2.5
Citua ha atau	S. SCIUIT	9	11.1	22.5 22.5
Citrobacter	C'a la casa		11.1	
	Citrobacter sp.	8		20
~ .	C. amalonaticus	1		2.5
Corynebacterium		9	11.1	22.5
	Corynebacterium sp.	6		15
	C. xerosis	2		5
	C. glucuronolyticum	1		2.5
Klebsiella		6	7.4	15
	Klebsiella sp.	4		10
	K. ozaenae	2		5
Streptococcus		4	4.9	10
	Streptococcus spp.	4		10
Enterobacter	s. epic coccus spp.	4	4.9	10
	Enterobacter spp.	2	,	5
	E. agglomerans	$\frac{2}{2}$		5
T.,	L. aggiomerans		3.7	<b>7.</b> 5
Tatumella	T = 4 = 11 = 0.00	3	3.7	
	Tatumella spp.	3 3 2	2.5	7.5 -
Actinomyces		2	2.5	5
	Actinomyces spp.	2		5
Shigella		2	2.5	5
	Shigella sonnei	2		5
Yersinia		2	2.5	5
	Yersinia spp.	2		5
Aeromonas		1	1.2	2.5
	Aeromonas caviae	1		2.5
Escherichia		1	1.2	2.5
	Escherichia coli	1		2.5
Mannheimia		1	1.2	2.5
	Mannheimia haemolytica	1	4.4	2.5
Micrococcus	Limino onima nacino e y tica	1	1.2	2.5 2.5
	Micrococcus spp	1	1.4	2.5
Pasteurella	Micrococcus spp.		1.2	
		1	1.2	<b>2.5</b> 2.5
	Pasteurella spp.	1		

# **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O conhecimento da microbiota normal é importante, pois esses microrganismos podem agir protegendo o hospedeiro contra patógenos. No entanto essa microbiota pode estabelecer uma relação oportunista e causar infecção nos animais, além de que pode influenciar negativamente o isolamento bacteriano por meio de contaminação das amostras.

Na cavidade prepucial pode haver a transmissão venérea de microrganismos patógenos oportunistas para as fêmeas no momento da cópula, podendo acarretar perdas econômicas para a caprinocultura.

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram uma boa diversidade de bactérias da microbiota prepucial desses caprinos. O *Bacillus* spp., foi o gênero bacteriano de maior proporção encontrado. A maioria das bactérias isoladas são consideradas microrganismos comensais, porém várias podem ser patógenos oportunistas em condições favoráveis.





#### **CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "ESTUDO QUALITATIVO DA MICROBIOTA BACTERIANA PREPUCIAL E VAGINAL DE CAPRINOS E OVINOS DA PARAÍBA", protocolada sob o CEUA nº 2010051018(ID 000466), sob a responsabilidade de **Inácio José Clementino** e equipe; DIOGO VIEIRA MOURA que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 07/12/2018.

We certify that the proposal "QUALITATIVE STUDY OF THE PREPUCIAL AND VAGINAL BACTERIAL MICROBIOTE OF PARAÍBA GOATS AND SHEEP", utilizing 384 Caprines (males and females), 384 Ovines (males and females), protocol number CEUA 2010051018 (ID 000466), under the responsibility of **Inácio José Clementino** and team; DIOGO VIEIRA MOURA which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 12/07/2018.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 01/2019 a 12/2020 Área: Ciências Veterinárias

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Caprinos sexo: Machos e Fêmeas idade: 6 a 80 meses N: 384

Linhagem: SRD e raças nativas Peso: 20 a 80 kg

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Ovinos sexo: Machos e Fêmeas idade: 6 a 80 meses N: 384

Linhagem: SRD e raças nativas Peso: 20 a 80 kg

Local do experimento: O experimento será realizado em propriedades rurais localizadas no estado da Paraíba, bem como em animais provenientes de abatedouros municipais. As amostras colhidas serão processadas e analisadas no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva (LMVP) do Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, localizado no município de Areia  $\Box$  PB.

João Pessoa, 13 de fevereiro de 2020

From Girlia A. Grançalvas

Profa. Dra. Islania Gisela Albuquerque Gonçalves
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais Universidade Federal da Paraíba