

EUNICE OBA<sup>a</sup>  
 ALCIDES DE AMORIM RAMOS<sup>b</sup>  
 HELIO LANGONI<sup>c</sup>  
 ANTONIO CARLOS PAES<sup>c</sup>  
 SONY DIMAS BICUDO<sup>a</sup>

OBA, E. et al. Microflora vaginal de búfalas durante a atividade reprodutiva e produtiva. *Semina: Ci. Agr., Londrina*, v. 13, n. 1, p. 18-21, mar. 1992.

RESUMO

Estudou-se a flora microbiana de 352 amostras de "swabs" colhidos do sistema genital de 22 búfalas em diferentes fases reprodutivas e produtivas. Dos cultivos bacterianos realizados, 168 (47,73%) apresentaram resultados positivos com isolamento de um ou mais microrganismos e os 184 restantes (52,27%) negativos. Foram identificados os seguintes microrganismos habitando o trato genital de búfalas independente das fases estudadas: *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus sp*, *Corynebacterium sp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Micrococcus sp*, *Proteus sp*, *Staphylococcus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*  $\alpha$  hemolítico, *Streptococcus sp*, *Streptococcus*  $\alpha$  hemolítico e *Streptococcus*  $\beta$  hemolítico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Búfalas, Bacteriologia, Ciclo estral, Gestação, Trato genital.

1 - INTRODUÇÃO

Em algumas espécies domésticas, já se conhece a microflora vaginal, enquanto que na espécie bubalina, ainda não se chegou a uma identificação dos microrganismos existentes e as possíveis procedências.

Há alguns trabalhos na literatura identificando os germes nos processos inflamatórios e outros relacionados às alterações cíclicas e patológicas da esfera reprodutiva.

Entre eles, PANDIT et al (1982), em estudo bacteriológico de muco vaginal de búfalas prenhes com prolapso de vagina, encontraram *Escherichia coli* e os gêneros *Proteus*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* e *Staphylococcus*.

Em muco cervical de 78 búfalas, DERASHRI et al (1983) isolaram em 22 (26,4%) amostras, os seguintes germes: *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium spp*, *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus*.

EL-NAGAAR et al (1983) em 229 amostras de muco cervical de 200 búfalas repetidoras de cio, encontraram: *Staphylococcus spp*, *Streptococcus*  $\beta$  hemolítico, *Corynebacterium* não identificado e *Klebsiella spp*.

OSMAN et al (1983) colheram muco cervical de 200 búfalas com repetição de cio e isolaram em 31 amostras (11%) *Staphylococcus spp*, em 13 (4,6%) *Corynebacterium pyogenes*; em 17 (6,0) *Corynebacterium* não identificado; em 34 (12%) *Klebsiella spp*; em 5 (1,8%) *Pseudomonas aeruginosa*, em 38 (13,4%) *Micrococcus*; em 3 (1,7%) *Streptococcus*  $\beta$  hemolítico; em 20 (7,1) *Escherichia coli*; em 34 (12%) *Proteus spp*; em 30 (10,6%) *Antracoides*. Destas amostras, 84 se constituí-

ram em culturas puras, 98 amostras associadas e 18 amostras se apresentaram negativas.

SHAH & DHOLAKIA (1983) estudaram a microflora do muco cervical e vaginal de 100 búfalas Surti e isolaram bactérias em 30 (83,33%) búfalas normais, 31 (73,80%) com endometrites e 18 (81,81%) búfalas em anestro. Dentre os germes isolados, citam: *Corynebacterium pyogenes*, *Corynebacterium equi*, *Corynebacterium ovis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus spp*, *Enterobacter spp* e *Pasteurella haemolítica*. Desses isolamentos, duas amostras produziram culturas puras, 19 culturas associadas com duas espécies de bactérias e 8 culturas associadas com três espécies de bactérias.

No Brasil, na região do Baixo Amazonas, Belém do Pará, RIBEIRO (1986) colheu secreção uterina de 20 búfalas entre 4 e 16 anos de idade, submetidas a manejo extensivo e encontrou 11 animais (55%) Gram positivas, sendo 6 (30%) *Staphylococcus aureus*, 4 (20%) *Corynebacterium* 1 (5%) *Staphylococcus epidermidis* e em 18 Gram negativos, sendo 8 (40%) *Escherichia coli*, 5 (25%) *Enterobacter spp*, 4 (20%) *Klebsiella spp* e 1 (5%) *Proteus spp*. Relata ainda que das 20 culturas obtidas, 12 (60%) foram de forma pura, 8 (40%) do tipo misto e 2 (10%) cultura sem crescimento.

Constitui-se em objetivo deste trabalho estudar a flora vaginal de búfalas durante a atividade reprodutiva e produtiva.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 22 búfalas mestiças Murrah adultas, procedentes da Fazenda Lageado, da Faculdade de

a. Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal - FMVZ - UNESP - 18.600 - Botucatu - SP

b. Departamento de Produção e Exploração Animal - FMVZ - UNESP - 18.600 - Botucatu - SP

c. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - FMVZ - UNESP - 18.600 - Botucatu - SP

Para o exame microbiológico foi colhido material da parede lateral da vagina durante todos os dias do ciclo estral e mensalmente nas gestantes e pós-parto, com auxílio de "swab" (haste de madeira de 15 cm de comprimento com uma das extremidades envolta em algodão

os 184 (52,27%) restantes, negativos.

No período de gestação, em um total de 220 amostras, 128 ou 58,18% foram negativos e 92 ou 41,82% positivos. Destes, 70 ou 76,09% produziram culturas puras, 16 ou 17,39% com duas espécies bacterianas e 6 ou 6,52% com três (Tabela 1).

TABELA 1  
DISTRIBUIÇÃO DE MICRORGANISMOS DA VAGINA DE BÚFALAS, SEGUNDO AS FASES DE GESTAÇÃO E PÓS-PARTO

ANIMAL	MESES DA GESTAÇÃO										PÓS-PARTO	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	30 dias	60 dias
1	C+H+M	-	-	C+	H+	H+	M+	H+	H+	C+++	-	-
2	-	-	F+	-	C+	-	M+	-	M+	C+++G+	C+H+++	-
3	-	C+H+	-	-	-	-	-	M++	M+	-	-	-
4	L+	L+	-	-	-	-	F+	-	M+	-	M+	-
5	I+	I+	-	-	-	C+D+	D+	-	D+	-	-	C+
6	-	-	-	-	D+++	H+	N+	M+	M+	-	H+	-
7	-	-	-	-	D+	-	N+	-	-	-	B+	-
8	M+	C++H++N+++	C+H+	H+	M++	M+	-	-	M+	M+	-	-
9	-	C+	-	N+	M+	-	-	M+	C+	-	-	-
10	-	C++H+	C+	-	-	-	-	-	B+	D+	-	D+
11	C++	C+H+M+	C+H+	-	-	M+	M++	M+	-	-	C+	C+++
12	-	C+H+	-	J+	C+H+N+	-	M++	-	M+	M+	C+	-
13	C++H+	C+H+	J+	-	-	J+	-	C+H+	-	-	N+	-
14	C+H+M+	C+H+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C+
15	M+	M+	H++N++	-	-	-	-	-	-	-	D+	-
16	-	M+	-	-	-	A+	M++	M+	-	-	M+	-
17	D+	C+D+	H+	D+	-	A+	A+	-	-	-	C++H++M+	E+
18	C+H+M+	C+	-	C+H+	-	-	-	-	-	H+	-	H+
19	M+++	-	-	M+	-	-	-	-	-	-	-	-
20	C+H+	-	-	-	C+	-	-	-	-	-	-	H++
21	C+	C+H+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	H+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = crescimento exíguo (1 a 5 colônias); ++ = crescimento discreto (6 a 50 colônias); +++ = crescimento exuberante (mais de 50 colônias);  
A = *Alcaligenes faecalis*, B = *Bacillus* sp, C = *Corynebacterium* sp, D = *Escherichia coli*, E = *Klebsiella* sp, F = *Micrococcus* sp, G = *Proteus* sp, H = *Staphylococcus* sp, I = *Staphylococcus aureus*, J = *Staphylococcus*  $\alpha$ -hemolítico, L = *Streptococcus* sp, M = *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolítico, N = *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico.

hidrófilo, acondicionadas em tubos de plástico estéril). Após a colheita, o "swab" foi colocado dentro de tubo estéril, imediatamente tampado e rotulado, identificado com o número da búfala e transportado para o laboratório.

No Laboratório, adicionou-se a cada tubo contendo o "swab", 1 ml de solução tampão fosfatada (PBS), mantendo-os por 2 horas sob temperatura de refrigeração e, posteriormente, procedeu-se à semeadura direta em placas de agar-sangue de bovino e Levine. A seguir, as placas foram incubadas a 37°C em condições de aerobiose, observando-se o crescimento bacteriano a 24, 48 e 72 horas. Estudou-se a morfologia bacteriana pela técnica de Gram e posterior repique bacteriano e realizou-se provas bioquímicas para identificação dos microrganismos isolados, conforme recomendado por KRIEG & HOLT (1984) e CARTER (1986).

Foi utilizado o método do  $\chi^2$  aos níveis de 1 a 5% para a análise dos microrganismos no trato vaginal durante as diferentes fases do estudo.

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos cultivos bacterianos da vagina de búfalas durante as fases de gestação, puerpério e ciclo estral constam das Tabelas 1 e 2.

Dos 352 exames bacteriológicos de 22 sistemas genitais, 168 (47,73%) cultivos apresentaram resultados positivos com isolamento de um ou mais microrganismos e

Não houve predominância de um tipo específico durante cada fase do período de gestação.

Ao longo da gestação, os microrganismos mais encontrados foram *Corynebacterium* sp, *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolítico e *Staphylococcus* sp, sendo a frequência estatisticamente significativa,  $p < 0,01$ ,  $\chi^2 = 28,96^{**}$ , quando comparada à frequência dos demais.

Após o parto, em 44 amostras não foi observado crescimento bacteriano em 27 ou 61,26% e em 17 ou 38,63% os cultivos foram positivos. Destas, 15 (88,25%) ocorreram de forma pura, 1 (5,88%) com duas espécies e 1 (5,88%) com três (Tabela 1). Nos períodos de 30 a 60 dias pós-parto não houve diferença quanto à distribuição dos diferentes tipos de microrganismos encontrados no trato reprodutivo das búfalas.

Durante as fases do ciclo estral em 88 amostras, 29 (32,95%) foram negativas e 59 (67,05%) positivas. Dentre estas, 38 (64,40%) sob a forma pura, 19 (32,20%) com duas espécies e 3,38% com três (Tabela 2).

Nos períodos de ciclos estrais regulares, também não se observou efeito significativo entre as distribuições dos microrganismos nas diferentes fases,  $\chi^2 = 6,66$ ; 4,5; 5,95 e 3,5.

Durante todo o ciclo estral foi constatada prevalência das bactérias encontradas no aparelho reprodutor das fêmeas,  $\chi^2 = 10,72$  para um valor de  $\chi^2$  tabelado de 9,49, com  $gl = 4$  e  $P < 0,05$ .

A bactéria comumente encontrada foi *Staphylococcus* sp, fato este também reportado por PANDIT et al

TABELA 2  
DISTRIBUIÇÃO DE MICRORGANISMOS DA VAGINA DE BÚFALAS,  
SEGUNDO AS FASES DO CICLO ESTRAL

ANI- MAIS	FASES DO CICLO ESTRAL			
	ANESTRO	ESTRO	METAESTRO	DIESTRO
01	N+	D+	C+H+N+	C+H+M+
02	H+	H+N+	C+H+	-
03	M+	H+N+	M+	-
04	M+	H+N+	M+	C+H+
05	I+	-	C+	M+
06	-	-	C+	H+
07	C++H+	C+	-	-
08	-	-	-	H+++
09	-	D+	-	C+
10	-	C+H+	-	-
11	H+	C+H+	C+H+	N+
12	C+N+++	D+	-	-
13	I+M+	M++	C+	H+M+
14	-	C++N+	N+	H+
15	A+	G+N+	H+	D+
16	H+	M+	-	D+
17	-	H+M+	N+	D+
18	-	-	D+	C+D+
19	N+	-	C+N+	M++
20	N+	C+N+	H++N+++	M+++
21	H+	H+	-	-
22	-	-	-	-

+ = crescimento exíguo (1 a 5 colônias); ++ = crescimento discreto (6 a 50 colônias); +++ = crescimento exuberante (mais de 50 colônias)

A = *Alcaligenes faecalis*  
C = *Corynebacterium* sp  
D = *Escherichia coli*  
G = *Proteus* sp  
H = *Staphylococcus* sp  
I = *Staphylococcus aureus*  
M = *Streptococcus*  $\alpha$  hemolítico  
N = *Streptococcus*  $\beta$  hemolítico

(1982), OSMAN et al (1983) em muco vaginal e cervical de búfalas, respectivamente. A segunda mais isolada foi o *Corynebacterium* sp, semelhante ao observado por EL-NAGAAR et al (1983) e RIBEIRO (1986) no útero de búfalas. Em seguida destacou-se o *Streptococcus*  $\beta$  hemolítico, conforme citações feitas por PANDIT et al (1982), EL-NAGAAR et al (1983), apresentando frequência superior por OSMAN et al (1983). O *Streptococcus*  $\alpha$  hemolítico foi frequentemente isolado não tendo sido entretanto relatado pelos autores consultados.

A *Escherichia coli* também foi constatada por DERASHRI et al (1983), OSMAN et al (1983), SHAH & DHOLAKIA (1983) e RIBEIRO (1986).

Outras bactérias isoladas (Tabelas 1 e 2) consideradas menos frequentes também são apontadas na literatura fazendo parte da flora do muco vaginal (PANDIT et al, 1982) e muco cervical (DERASHRI et al, 1983; EL-NAGAAR et al, 1983; OSMAN et al, 1983; SHAH e DHOLAKIA, 1983; RIBEIRO, 1986).

Pouco se conhece sobre a prevalência de microrganismos no trato genital de búfalas, existindo um campo de pesquisa aberto para estudos comparativos de flora vaginal e cervical, bem como a flora existente em animais sadios e portadores de anormalidades reprodutivas.

#### 4 - CONCLUSÕES

1 - Nas fases estudadas foram identificados os seguintes microrganismos: *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus* sp, *Corynebacterium* sp, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Micrococcus* sp, *Proteus* sp, *Staphylococcus* sp, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*  $\alpha$  hemolítico, *Streptococcus* sp, *Streptococcus*  $\alpha$  hemolítico, *Streptococcus*  $\beta$  hemolítico.

2 - Não houve prevalência de um tipo específico durante cada fase estudada.

OBA, E. et al. Microbial flora in the vagina of buffalo cows during reproductive and productive activity. *Semina: Ci. Agr., Londrina*, v. 13, n. 1, p. 18-21, mar. 1992.

#### ABSTRACT

The microbial flora from 352 vaginal swabs from 22 buffaloes cows was studied. From the bacterial cultures performed, 168 (47,73%) showed positive results with isolation of one or more microorganisms, and the remainder 184 (52,27%) were negative. The following microorganisms were identified in the genital mucosa of buffalo cows independently of the reproductive or productive cycle: *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus* sp, *Corynebacterium* sp, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Micrococcus* sp, *Proteus* sp, *Staphylococcus* sp, *Staphylococcus aureus*,  $\alpha$  hemolitic *Staphylococcus*, *Streptococcus* sp,  $\alpha$  hemolitic *Streptococcus* and  $\beta$  hemolitic *Streptococcus*.

**KEY-WORDS:** Buffaloes, Bacteriology, Estrous cycle, Gestation, Genital tract.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARTER, G.R. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*. 3. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 261p.
- DERASHRI, H.J.; SHAH, N.M.; DHOLAKIA, P.M.; KODAGALI, S.B. Genital infections and treatment in Surti Buffaloes. *Indian J. Anim. Reprod.*, 4(1): 63-5, 1983.
- EL NAGAAR, M.A.; OSMAN, A.M.; SERUR, B.J.; EL-TIMAWY, A.A.H. Treatment of repeat breeder buffalo cows. *Assiut Vet. Med. J.*, 11: 207-10, 1983.
- KRIEG, N.R. & HOLT, J.G. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. 1186 p.
- OSMAN, A.M.H.; EL-NAGAAR, M.A.; EL-TIMAWY, A.A.M.; SERUR, B.J. Bacteriological studies of repeat-breeder buffalo cows in upper Egypt. *Assiut Vet. Med. J.*, 11(21): 213-16, 1983.
- PANDIT, R.K.; GUPTA, S.K.; PATTABIRAMAN, S.R. Bacteriology and histopathology of the vagina during pre-partum prolapse in buffaloes. *Indian Vet. J.*, Madras, 59(8): 589-91, 1982.

---

7. RIBEIRO, H.F.L. *Prevalência das alterações clínicas e patológicas do sistema genital de búfalas, Bubalus bubalis Lin, na região do Baixo Amazonas, Estado do Pará. Rio de Janeiro, 1986, 90p. (Tese-Mestrado) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal do Rio de Janeiro .*

8. SHAH, N.M. & DHOLAKIA, P.M. *Microflora of the cervico-vaginal mucus of Surti Buffaloes and their drug-resistance pattern. Indian J. Anim. Sci., New Delhi, 53(2): 147-50, 1983.*

Recebido para publicação em 3/5/1991

---

#### AGRADECIMENTOS

Ao Sr. Fernando José Paganini Listone, Técnico de Laboratório do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu.

---