

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
SANIDADE ANIMAL

DISSERTAÇÃO

**MICROBIOTA BACTERIANA EM MIÁSES UMBILICAIS POR
LARVAS DE *Cochliomyia hominivorax* COQUEREL, 1858 (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE) EM BEZERROS NATURALMENTE INFESTADOS**

CARLOS CÉSAR MASCARENHAS DA SILVA DE OLIVEIRA

2006



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
SANIDADE ANIMAL**

**MICROBIOTA BACTERIANA EM MIÍASES UMBILICAIS POR
LARVAS DE *Cochliomyia hominivorax* COQUEREL, 1858 (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE) EM BEZERROS NATURALMENTE INFESTADOS**

CARLOS CÉSAR MASCARENHAS DA SILVA DE OLIVEIRA

Sob a orientação do Professor
Argemiro Sanavria

e co-orientação da Professora
Miliane Moreira Soares de Souza

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Sanidade Animal.

Seropédica, RJ
Março de 2006

À minha família, pelo carinho e incentivo e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade da realização desta dissertação.

AGRADECIMENTOS

Em especial, ao professor Argemiro Sanavria pela sugestão do tema, pela paciência e pela ajuda na execução deste trabalho.

À professora Miliane Moreira Soares de Souza por aceitar ser co-orientadora deste trabalho e pela ajuda na formulação da metodologia.

Ao curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e à sua coordenadora, a professora Maria Júlia Salim Pereira, pela oportunidade.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Um agradecimento especial às pós-graduandas do laboratório de bacteriologia; Lidiane de Castro Soares, Ingrid Annes Pereira, Shana de Mattos Oliveira Coelho e Lígia Portugal Gomes pela fundamental ajuda na identificação bacteriana das amostras deste trabalho.

Aos estagiários Bruno Rocha Pribul, Débora Fontes e Maria Clara Botelho pela boa vontade em colaborar para o êxito deste trabalho.

À doutora Heloisa Helena Magalhães Soares Monteiro pelos ensinamentos científicos no início do curso.

Aos funcionários do laboratório de Doenças Parasitárias, Cléa Guimarães de Castro e Luiz Ribeiro da Paz pela ajuda prestada.

Aos amigos do curso de pós-graduação pelos ensinamentos, pela ajuda, pelo companheirismo e pelos momentos agradáveis vividos.

A todos os amigos que compartilharam os seus conhecimentos e experiências; e que me deram palavras de conforto nos momentos difíceis.

A todos os professores do nosso país e em especial desta Universidade, pelo árduo trabalho na divulgação do conhecimento e pela sua importância; pois sem eles não seria possível a execução deste trabalho.

À Embrapa Pantanal e aos proprietários da Fazenda Santo Antônio pelo material utilizado nesta dissertação.

A todos aqueles que de alguma forma tiveram participação importante na conclusão deste trabalho.

Ao meu pai Nelson, minha mãe Isneide e minha irmã Caroline pelo incentivo e ajuda no longo caminho do conhecimento.

E a DEUS por permitir que coisas maravilhosas aconteçam todos os dias em nossas vidas.

SUMÁRIO

1	1. INTRODUÇÃO
2	2. REVISÃO DE LITERATURA
2	2.1 Biologia da oviposição
3	2.2 Biologia alimentar
3	2.3 O papel da microbiota bacteriana na atração dos insetos para oviposição e alimentação
7	3. MATERIAL E MÉTODOS
7	3.1 Escolha do local e dos animais
7	3.2 Coleta de amostras
7	3.3 Identificação Presuntiva
9	3.4 Identificação das Espécies de <i>Staphylococcus</i> spp.
9	3.5 Identificação das Espécies de <i>Streptococcus</i> spp.
9	3.6 Identificação das Enterobactérias
9	3.7 Identificação dos Demais Grupos de Bactérias
10	4. RESULTADOS
10	4.1 Material oriundo de miíase umbilical de bezerros da Fazenda Nhumirim, município de Corumbá-MS.
10	4.2 Material oriundo de miíase umbilical de bezerros da Fazenda Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ.
17	5. DISCUSSÃO
19	6. CONCLUSÕES
20	7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
26	8. ANEXOS

ÍNDICE DE TABELAS

- 10 **Tabela 1.** Prevalência do número de espécies bacterianas encontradas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal onde só houve crescimento bacteriano.
- 11 **Tabela 2.** Frequência relativa dos gêneros de bactérias de colônias identificadas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.
- 11 **Tabela 3.** Frequência encontrada por gênero bacteriano em relação ao total de amostras analisadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.
- 12 **Tabela 4.** Frequência das características morfo-tintoriais em relação ao número de colônias identificadas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.
- 12 **Tabela 5.** Frequência de famílias de bactérias em relação ao número de amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.
- 12 **Tabela 6.** Frequência de famílias em relação ao número de colônias identificadas das amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.
- 13 **Tabela 7.** Frequência do número de espécies bacterianas encontradas nas amostras coletadas de bovinos da Faz. Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ, onde só houve crescimento bacteriano.
- 14 **Tabela 8.** Frequência encontrada por gênero bacteriano em relação ao número total de colônias identificadas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Fazenda Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ.
- 14 **Tabela 9.** Frequência encontrada por gênero bacteriano em relação ao número de amostras analisadas de bovinos oriundos da Fazenda Santo Antônio do município de Miguel Pereira-RJ.

- 15 **Tabela 10.** Frequência das características morfo-tintoriais em relação ao número de colônias identificadas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Fazenda Santo Antônio do município de Miguel Pereira-RJ.
- 15 **Tabela 11.** Frequência das famílias bacterianas em relação ao número de amostras coletadas de bovinos oriundos da Fazenda Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ.
- 15 **Tabela 12.** Frequência de famílias em relação ao número de colônias identificadas das amostras coletadas de bovinos oriundos Fazenda Santo Antônio do município de Miguel Pereira-RJ.

ÍNDICE DE FIGURAS

- 8 **Figura 1.** Criação extensiva de bovinos na Fazenda Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ.
- 8 **Figura 2.** Coleta de material do umbigo de um bezerro com miíase por *Cochliomyia hominivorax*.
- 16 **Figura 3.** Miíase umbilical por *Cochliomyia hominivorax* sem exsudato purulento.
- 16 **Figura 4.** Umbigo de bezerro sem miíase por *Cochliomyia hominivorax* com exsudato purulento.

ÍNDICE DE ABREVIações

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

MS – Mato Grosso do Sul

RJ – Rio de Janeiro

UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

BHI – Infuso cérebro coração

VP – Voges-proskauer

TSI – Agar tríplice açúcar-ferro

RESUMO

OLIVEIRA, Carlos César Mascarenhas da Silva de. **Microbiota bacteriana em miíases umbilicais por larvas de *Cochliomyia hominivorax* Coquerel, 1858 (Diptera: Calliphoridae) em bezerros naturalmente infestados.** Seropédica: UFRRJ, 2006. 51 (Dissertação, Mestrado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal).

O objetivo deste trabalho foi identificar a microbiota bacteriana de miíases umbilicais de bezerros recém-nascidos. Dois locais foram escolhidos para coleta de material: a Fazenda Nhumirim pertencente à Embrapa Pantanal-MS e a Fazenda Santo Antônio, no município de Miguel Pereira-RJ. Amostras do exsudato de lesões por larvas de *Cochliomyia hominivorax* foram coletados com swabs em 62 bezerros, acondicionadas em tubos de ensaio contendo meio de transporte e encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia Veterinária da UFRRJ. No isolamento primário foi utilizado ágar sangue ou ágar infusão de cérebro e coração. As colônias isoladas foram submetidas à coloração pelo método de Gram, teste da catalase e hidróxido de potássio a 3%. De acordo com as características morfotintórias e de crescimento, os isolados foram processados para melhor identificação. Para a identificação das espécies de *Staphylococcus* spp.; as colônias isoladas foram semeadas em meios seletivos, para observação dos aspectos fenotípicos característicos do gênero. A identificação foi efetuada por meio do procedimento padrão: prova da coagulase livre e ligada, provas de redução de nitratos, VP, produção de urease e fermentação de açúcares. A identificação dos isolados de *Streptococcus* spp foi efetuada através do repique em meio seletivo e, posteriormente, através da inoculação em leite adicionado com azul de metileno, e das provas de hidrólise da esculina e do hipurato. Para as amostras suspeitas de enterobactérias, foi utilizado o meio MacConkey no isolamento primário e as seguintes provas de identificação: comportamento em ágar triplice açúcar-ferro, motilidade em tubo, produção do indol, produção de ácidos a partir da glicose, fermentação de açúcares, redução do nitrato, produção de gelatinase, produção de urease, degradação do citrato e do malonato. Das amostras coletadas, foram isoladas 89 colônias, representando 14 gêneros diferentes, de cinco famílias. A família mais freqüente foi a Bacillaceae; sendo os gêneros mais prevalentes o *Bacillus* e o *Micrococcus*. Espécies patogênicas foram isoladas, mas infecção bacteriana não foi percebida nos bezerros do experimento; indicando que alguma substância bactericida ou bacteriostática seja produzida pelas larvas ou por alguma bactéria da microbiota umbilical.

Palavras chave: *Cochliomyia hominivorax*, miíase, bovinos

ABSTRACT

OLIVEIRA, Carlos César Mascarenhas da Silva de. **Bacterial microbiota in calf navels myiasis by *Cochliomyia hominivorax* Coquerel, 1858 (Calliphoridae) larvae.** Seropédica: UFRRJ, 2006. 52p. (Dissertation, Master in Veterinary Science, Animal Sanity).

The objective of this study was to identify the bacterial microbiota in calf navels myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* larvae. Two places were chosen to collect the material: the Nhumirim ranch belonging to Embrapa Pantanal, Corumbá-MS and the Santo Antônio ranch, Miguel Pereira-RJ. There were collected 62 cotton swabs from calf navels naturally caused by *C. hominivorax* larvae. After that, the cotton swabs were sent to the Veterinary Bacteriology Laboratory at UFRRJ inside carriage test tubes with agar. The primary isolation used bovine blood agar and brain heart infusion (BHI) agar. After the incubation period, the isolates were evaluated by means of Gram staining, catalase testing and 30% KOH. After stained, the isolates were evaluated by their stain morphologic and color characteristics. Species of *Staphylococcus* spp. were streaked in selective agar to *Staphylococcus* spp. for the species identification and was used coagulase test, nitrate reduction test, VP, urease production and sugar fermentation. To *Streptococcus* spp. was used selective agar to *Streptococcus* spp. species throughout inoculation in methylene blue milk, esculine test and hippurate test. The specimens of the family Enterobacteriaceae used THI test, motility in tube test, indol production test, gelatine production, urease production, citrate and malonate degradation. A total of 89 colonies were isolated; 14 genera and five families were identified. The most frequent family was Enterobacteriaceae and the genera more frequent was *Bacillus* and *Micrococcus*. Pathogenic species were isolated, but no secondary infection occurred in the calves; some antibacterial or bacteriostatic substances may be produced by larvae of *C. hominivorax* or bacterial microbiota of the myiasis of the navel.

Key words: *Cochliomyia hominivorax*, myiasis, cattle.

1. INTRODUÇÃO

Os insetos desempenham importantes papéis tanto no que diz respeito à manutenção e ampliação da biodiversidade, quanto do ponto de vista industrial e comercial. Somente uma pequena parcela das espécies é considerada vetor de patógenos (SCHÜLLER, 2000).

Entre os insetos de importância médico-veterinária encontramos as moscas, principalmente, as de comportamento sinantrópico. Segundo Neves et al. (1995) elas veiculam 64 espécies de vírus, 112 espécies de bactérias, 29 espécies de fungos, 60 espécies de protozoários e 50 espécies de helmintos.

A *Cochliomyia hominivorax* é um califorídeo cujas larvas causam miíases primárias, conhecidas como bicheiras. Esta mosca é conhecida por diversos nomes vulgares como: mosca-varejeira, mosca-da-bicheira, *screwworm* (da língua inglesa) e gusano barrenador (da língua espanhola) (GUIMARÃES et al., 1983; HALL & WALL, 1995).

A mosca-da-bicheira necessita de tecido vivo para depositar seus ovos, parasitando quase todos os animais domésticos de sangue quente, animais selvagens e humanos, sendo por isso considerada uma zoonose (HALL & WALL, 1995). As espécies mais acometidas são o bovino e o cão, tendo o cão uma alta prevalência de infestação em nosso estado (CRAMER-RIBEIRO et al., 2000a e b).

A importância econômica deste parasita é muito grande; os prejuízos causados por ele chegaram a 100 milhões de dólares no sudoeste dos Estados Unidos da América, causando perdas por mais de 125 anos (STEELMAN, 1976). Na América do Sul, é o terceiro ectoparasita em ordem de importância econômica (MOYA-BORJA, 2003). No Brasil, as perdas provocadas por esta mosca têm sido calculadas em 150 milhões de dólares por ano (Grisi et al., 2002). A *C. hominivorax* encontra-se erradicada nos Estados Unidos da América, México, Belize, Guatemala, El Salvador e Honduras (GALVIN & WYSS, 1996).

Além dos prejuízos já conhecidos na pele e no couro dos animais parasitados; os califorídeos, de uma maneira geral, têm sido estudados como possíveis veiculadores de patógenos (PARALUPPI et al., 1996). A *C. hominivorax* vem sendo descrita como possível veiculadora de bactérias patogênicas durante o seu hábito alimentar nas lesões onde ovipõe (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999).

A hipótese deste estudo foi que as bactérias presentes nas lesões umbilicais de bezerros recém-nascidos podem causar inflamação local acarretando em prejuízos ao animal.

O objetivo deste trabalho foi o de identificar a microbiota bacteriana de lesões umbilicais em bezerros recém-nascidos no Pantanal, estado do Mato Grosso do Sul, e no estado do Rio de Janeiro.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biologia da oviposição

Uma variedade de substâncias químicas voláteis é conhecida por atrair insetos de várias espécies, para potenciais locais de oviposição. Entre estas substâncias encontra-se feromônios que estimulam ou inibem a atração, álcoois, aldeídos ácidos orgânicos, ésteres e cetonas (EISEMANN et al., 1987).

Muitos estudos têm avaliado a resposta aos odores e sua relação com a oviposição e alimentação. De Vaney et al. (1970) concluíram que a oviposição é maior quando há exposição ao carbonato de amônio a 1 %. Jones et al. (1976) criaram uma substância atrativa para a *C. hominivorax*, o “swormlure”, que era 5,7 vezes mais atrativa para machos e 7,7 vezes mais atrativas para as demais moscas e era constituída por 10 substâncias químicas. Com o aperfeiçoamento do “swormlure”, pela adição do dissulfito de metila, criou-se o “swormlure 2”; que atraía mais machos e fêmeas jovens virgens que o figado em decomposição. Já o figado atraía mais fêmeas silvestres já fecundadas (COPPEDGE et al., 1977). O swormlure 4 atraiu geralmente fêmeas jovens ou em um estágio inicial de vitelogenese indicando que este odor artificial estimula primariamente uma resposta alimentar (HALL et al., 1995).

Os estímulos iniciais percebidos pelas fêmeas de *Cochliomyia hominivorax* na procura pelo substrato para a oviposição, na natureza, são provavelmente o olfativo e o visual. A resposta aos atrativos voláteis aumentam com o maior desenvolvimento ovariano e com a idade da mosca (CHAUDHURY et al., 2002). A oogênese da mosca varejeira está dividida em 10 estágios (ADAMS & REINECKE, 1979); e as fêmeas estéreis de 7 dias (de estágio ovariano 3 ou menos) respondem em menor intensidade que as fêmeas férteis e isto é possível, pois embora estas fêmeas não tenham ovos maduros no ovário, os seus mecanismos olfatórios relacionados à oviposição e alimentação estão bem desenvolvidos (CHAUDHURY et al., 2002). Sendo as larvas da bicheira parasitas obrigatórios de animais de sangue quente, sua sobrevivência depende da habilidade das fêmeas em localizar e selecionar um substrato adequado para o crescimento larvar (HOLT et al., 1979). Os mais importantes receptores olfativos estão situados sobre as antenas e as peças bucais e a remoção de somente um apêndice não reduziu acentuadamente a postura de ovos, mas quando ambos, antenas e peças bucais são removidos, somente 21% das moscas ovipuseram (DE VANEY et al., 1970).

Segundo Holt et al. (1979) há evidências de que a oviposição pela mosca-da-bicheira seja mediada por contato com quimiorreceptores. Após intensa caminhada e investigação do local, elas estendem e arrastam seus oviposidores pelo substrato antes de ovipôr. A maioria das fêmeas prefere ovipôr sobre a pele, ao redor de feridas necrosadas, na borda de feridas recentes ou nas aberturas corporais; como boca, órbita ocular, orelhas e vagina (THOMAS & MANGAN, 1989). Segundo Piccinini (1989) há um completo desenvolvimento das larvas de *C. hominivorax* nos ferimentos causados pelo morcego hematófago *Desmodus rotundus*, já Veríssimo & Franco (1994) encontraram uma alta prevalência de miíase por *C. hominivorax* em bovinos infestados por *Boophilus microplus*, indicando que uma simples picada de carrapato pode predispor à miíase.

A fêmea põe a massa de ovos com a ajuda de receptores sensoriais presentes no ovipositor e localizam os ovos postos antes de depositar os próximos. A oviposição inicia-se dentro de um minuto após o contato com o substrato. As fêmeas ovipõem a uma taxa de um ovo/segundo, depositando em média 250 a 300 ovos sobre o hospedeiro (HOLT et al., 1979).

Sob dieta laboratorial, a média de oviposição é de 185 ovos por fêmea (PARKER & WELCH, 1991). O comportamento pós-oviposicional consiste na redução do movimento e da atividade de vôo. A oviposição é maior a 40°C havendo um coeficiente de correlação entre porcentagem de oviposição e temperatura entre 21° e 40°C (HOLT et al., 1979).

Hall et al. (1995) concluíram que a cor preta foi a preferida pela *C. hominivorax* para ovipôr. De acordo com Hammack (1991) as taxas de oviposição são maiores quando há escuridão, pois esta é percebida pelas fêmeas de *C. hominivorax* que, conseqüentemente, suprimem suas atividades locomotoras. As fêmeas podem voar longas distâncias à procura de uma ferida para ovipôr (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999).

2.2 Biologia alimentar

Aproximadamente 24 horas após a deposição da massa de ovos, o primeiro estágio larvar entra na lesão para se alimentar e após 6 ou 7 dias após o início da alimentação, a *C. hominivorax* sofre duas mudas. As larvas escavam o tecido vivo, alargando o tecido e formando bolsas. A atividade larvar produz a saída de secreções e de sangue da ferida, atraindo mais fêmeas, resultando em múltiplas infestações, consistindo em várias centenas ou milhares de larvas de todos os tamanhos. A ferida, se complicada por infecções secundárias, pode levar o animal à morte (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999). Os adultos nutrem-se de néctar de flores, suco de frutas e secreções de feridas (FORTES, 1997).

As moscas são menos atraídas aos odores sanguíneos após a alimentação. A atração de nulíparas vitelogênicas, mas não de machos, sugerem respostas baseadas na necessidade alimentar para a maturação dos ovários; o que pode influenciar na taxa de maturação dos ovos ou no tamanho dos ovos. A maior parte das fêmeas, cerca de 90%, é atraída pelo sangue aquecido, e no contato com ele, elas estendem suas probóscides e se alimentam (HOLT et al., 1979). Grávidas nulíparas também são atraídas para o sangue desidratado e para os fluidos de feridas, apresentando padrões de resposta equivalentes às apresentadas para o sangue total. Thomas & Mangan (1989) observaram alimentação sem oviposição como o comportamento mais freqüente na natureza. Guillot et al. (1978) noticiaram que as fêmeas ingeriram exsudato de feridas antes e após a oviposição; e Holt et al. (1979) relataram a alimentação minutos antes de ovipor sobre o sangue bovino aquecido; embora a alimentação também ocorra antes da oviposição na maioria das vezes; ela ocorreu após o início da oviposição. Embora a existência de um atrativo para oviposição não possa ser excluído, os resultados relatados por Holt et al. (1979), suportam a hipótese de que um atrativo alimentar associado com as feridas do hospedeiro atraiu ambas as fêmeas com ovários imaturos e aquelas que procuraram locais para ovipôr.

2.3 Papel da microbiota bacteriana na atração dos insetos para oviposição e alimentação

No que se refere ao estudo do papel das bactérias na atração de insetos; um dos estudos pioneiros sobre o assunto relata que infusões preparadas, a partir de pedaços de madeira e de grama, foram atrativas para mosquitos e aumentaram a deposição de ovos; em ambas as infusões foram encontrados numerosos microorganismos, em especial protozoários ciliados (GJULLIN et al., 1965). Mais tarde, Schreck & James (1968) observaram, em testes com olfatômetro, que as mãos recém-lavadas foram menos atrativas aos mosquitos que as mãos não lavadas por várias horas. Os experimentos mostraram que *Bacillus cereus*, quando

cultivado em caldo nutriente produziu algumas substâncias que atraíram as fêmeas de *Aedes aegypti*. As bactérias, em geral, produzem dióxido de carbono como um bioproduto do metabolismo. O dióxido de carbono tem um papel importante na atração de mosquitos ao hospedeiro. Maw (1970), utilizando o ácido cáprico, provocou o rápido desenvolvimento de bactérias da família Pseudomonadaceae que atraíram mosquitos e estimularam a deposição dos seus ovos.

Em outro estudo pioneiro sobre o assunto, há o relato de que as larvas do besouro do capim (*Costelytra zealandica*) principal peste dos pastos da Nova Zelândia, eram atraídas para uma preparação adesiva e para uma resina que continham um atrativo químico. Estes materiais continham pequenas porções de fenol. Bactérias isoladas de *Costelytra zealandica* foram capazes de produzir um atrativo sexual químico. Níveis similares de atrativos ativos têm sido obtidos com soluções aquosas diluídas de fenol. Possivelmente a bactéria converteu tiroxina a fenol neste caso (HOYT et al., 1971).

Um estudo com a mosca *Lucilia cuprina* Wiedmann (Diptera: Calliphoridae), agente de miíase em ovinos na Austrália, revela que a produção de estimulantes pelas bactérias pode ser influenciada pela composição química da lã. Aquelas culturas, para as quais as fêmeas foram primeiro atraídas, geralmente estimularam a maior liberação de ovos. A produção de substâncias voláteis por *Bacillus subtilis* a partir do ácido palmítico desempenhou um papel importante na estimulação da oviposição. Substâncias voláteis liberadas de culturas de *P. aeruginosa*, *Proteae cloacae*, *Proteus mirabilis* e *B. subtilis* estimularam oviposição pela *L. cuprina*. *B. subtilis* produziu a mais potente substância volátil de estimulação para a oviposição em culturas na placa de petri (EMMENS et al. 1982).

Em outro experimento com a mosca *Lucilia cuprina*, foi demonstrada a maior atração dessas moscas a iscas que continham apenas microorganismos em relação às iscas que continham larvas sem microorganismos. Isto demonstra que os microorganismos e não as larvas são as principais fontes de produção de substâncias voláteis às moscas grávidas. O principal efeito da larva em meios com microorganismos foi o de facilitar a atividade geradora de odores do microorganismo. A combinação de larvas e microorganismos causou um diferente tipo de odor ou até um sinergismo entre os odores larvais e o dos microorganismos. Embora muitas espécies de microorganismos possam produzir substâncias voláteis, é provável que a exata combinação de químicos depende da composição de espécies da população de microorganismos em cada meio putrefeito (EISEMANN & RICE, 1987).

Estudo de De Vaney et al. (1973), procurando demonstrar a importância das bactérias na produção de matérias atrativas à mosca-da-bicheira, constatou que tanto o sangue total asséptico quanto o sangue total não asséptico apresentaram pouca influência na atração de moscas grávidas e que o sangue estéril desfibrinado era tão atrativo quanto a água destilada. Já o sangue total não asséptico inoculado com várias espécies de microorganismos aumentou a atração em 4 vezes em relação ao sangue total asséptico, e este, inoculado com *Proteus mirabilis*, foi 7 a 9 vezes mais atrativo que ele mesmo não inoculado.

Holt et al. (1979), em estudo parecido, concluiu que o sangue total não é responsável pela atração de moscas para o hospedeiro, embora, induza uma maior porcentagem de população a ovipor nos testes de olfatômetro. Já o fluido de feridas diluídas a 2,5% foi o que mais atraiu as moscas grávidas. A carne possui uma alta taxa de atração e de oviposição a 40°C; já a carne reconstituída e liofilizada apresentou uma menor taxa de atração e oviposição, se comparada a carne fresca, indicando que deve haver um fator odorífero que é perdido durante a liofilização; supondo que alguma substância química volátil seja reconhecida pela fêmea grávida.

Outro estudo, sobre o papel desempenhado pelas bactérias na atração da mosca-da-bicheira, provou que o sangue contendo *Proteus rettgeri* foi o mais atrativo e que a combinação das 4 espécies estudadas de *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. morgani*, *P. rettgeri* e

P. vulgaris) aumentou a atração das moscas se comparada à atração provocada pelas espécies isoladamente, exceto para *Proteus rettgeri*; por outro lado, *Bacillus* tiveram pouca ou nenhuma atração nos testes com as espécies isoladas e em combinação, mas o sangue inoculado com *Bacillus* teve 73% de oviposição, enquanto que, o inoculado com as 4 espécies de *Proteus* apresentou somente 24 % de oviposição. Das espécies de *Bacillus*, a maior resposta foi para *B. stearothermophilus* (EDDY et al., 1975).

Chaudhury et al. (2002) acrescentando dois mililitros de caldo bacteriano (que continha *Proteae cloacae*, *Proteae sakazakii*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii* e *Serratia liquefaciens*) a amostras de sangue; e incubando-as por 24, 48, 72 e 96 horas a 37°C, verificou resposta significativa das fêmeas férteis de 4 dias ao sangue inoculado e incubado por 48 horas e as respostas das moscas de 7 e 10 dias, ao sangue inoculado, foi significativamente maior que o das moscas de 4 dias. O autor concluiu que o sangue inoculado e incubado com bactérias produziu substâncias voláteis que atraíram e/ou estimularam a locomoção de moscas grávidas e, em uma menor extensão, de fêmeas estéreis sem ovos maturados. Os sangues incubados por 48 e 72 horas foram os mais efetivos na atração de moscas, provavelmente devido a um maior número de bactérias nestas amostras, produzindo relativamente mais moléculas voláteis atrativas. A atração diminuiu quando o sangue foi incubado por 96 horas, provavelmente devido a uma maior mortalidade bacteriana. Isto é resultado de aumento populacional devido ao longo período de incubação, possivelmente, causando depleção de nutrientes no meio e acúmulo de metabólitos tóxicos, o que causa a morte bacteriana e leva a uma diminuição dos atrativos voláteis. A ingestão de sangue confirmou a existência de um atrativo alimentar no sangue. É possível que as substâncias voláteis do sangue inoculado sejam responsáveis pela atração das moscas grávidas para o potencial substrato de oviposição. Uma vez em contato com o substrato, elas são provavelmente estimuladas a ovipôr pelo estímulo do contato, pela alimentação, ou por ambos.

De acordo com Hammack et al. (1987), a atração de fêmeas de *C. hominivorax* às diferentes doses de *Providencia rettgeri* diluídas foi detectada 5 dias após emergência; e após isso, as respostas aumentaram gradualmente com a idade até alcançarem 10-12 dias. Aos 10-12 dias após emergência, a atração para o diluído de *P. rettgeri* foi 15 vezes maior para as fêmeas acasaladas que para machos e 4 vezes maior para as fêmeas acasaladas que para as fêmeas virgens. Os resultados confirmaram que *P. rettgeri* produz um atrativo para a mosca-da-bicheira. Esta atração é maior para as fêmeas com ovários maduros, pelo menos em populações nulíparas. A atração, tanto de fêmeas grávidas como imaturas ao hospedeiro, onde se alimentam, indicou a existência de químicos específicos tanto para a oviposição, quanto para alimentação.

Em estudo posterior, Hammack (1991) constatou que 28% a 78% das fêmeas grávidas ovipuseram no sangue fresco diluído 50%, esta variação ocorreu devido às condições ambientais ou à qualidade das moscas durante o ensaio. O sangue bovino manipulado para prevenir a produção dos odores atrativos estimulou mais oviposição que os meios olfatoriamente atrativos (que incluíam porções de carne, fluidos de feridas infestados com a bicheira e culturas com caldo da bactéria *Providencia rettgeri*). Caldo inoculado com bactéria apresentou um pouco mais de oviposição que o não inoculado; mas não foi mais estimulatório que os padrões sanguíneos testados.

Thomas & Mangan (1989) relataram que somente fêmeas foram observadas visitando feridas, concluindo que a alimentação, anteriormente a oviposição, foi o objetivo primário de muitas visitas às feridas do hospedeiro; pois a alimentação sem oviposição ocorreu em 62,3 % das vezes. Grande parte das fêmeas de *C. hominivorax* retorna muitas vezes para se alimentar ou ovipor no mesmo animal e há ingestão de exsudato de feridas antes e após oviposição.

Ruíz-Martínez et al. (1996) pesquisando a associação entre a *Cochliomyia hominivorax* e a *Dermatobia hominis* (a mosca-do-berne) concluíram que as lesões causadas pela *D. hominis* não são consideradas fatores predisponentes para a bicheira nos trópicos, sendo o fenômeno raramente observado (7,41% para moscas de laboratório e 5,21% para as moscas silvestres). A hipótese formulada foi de que o pH no furúnculo não seria favorável à oviposição da *C. hominivorax*; uma vez que, o pH associado à postura de *C. hominivorax* é substancialmente alcalino; enquanto que, os fluidos furunculares causados por *D. hominis* foram fisiologicamente ácidos. Além disso, a *C. hominivorax* não ovipõe sobre o pus e a microflora desenvolvida nas lesões por *D. hominis* pode ser desfavorável à atração e estimulação das fêmeas de *C. hominivorax* grávidas. A espécie mais isolada (mais prevalente) no berne foi *Staphylococcus* spp., enquanto que a microflora associada à mosca-da-bicheira foram as das famílias Enterobacteriaceae. Logo, *Staphylococcus* spp. produzem fluidos ácidos enquanto Enterobacteriaceae produzem fluidos alcalinos. A associação da *C. hominivorax* com lesões de *D. hominis* pode ser somente para alimentação, pois 81,3% das moscas-da-bicheira observadas alimentam-se sobre as lesões de *D. hominis*. A alimentação sem oviposição foi observada em 62,35% dos casos; sendo as lesões por *D. hominis*, uma fonte de proteína natural e abundante para *C. hominivorax*, entretanto, é possível que as lesões por *D. hominis* possam ser muito pequenas e de textura dura não favorecendo a oviposição pela *C. hominivorax*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Escolha do local e dos animais

A coleta do material foi realizada em dois locais diferentes: a Fazenda Nhumirim e a Fazenda Santo Antônio. A Fazenda Nhumirim da Embrapa Pantanal, localizada no município de Corumbá, estado do Mato Grosso do Sul, foi escolhida por ser um centro de excelência na pesquisa em gado de corte e por possuir um plantel que permitisse a coleta do número de amostras suficientes para o estudo.

O outro local escolhido para o estudo foi a Fazenda Santo Antônio, localizada no município de Miguel Pereira, estado do Rio de Janeiro. Esta foi escolhida por ser uma propriedade com elevada prevalência de miíases umbilicais e pelo sistema de manejo; com a estação de nascimento de bezerros concentrada de acordo com a estação de monta, facilitando e permitindo a coleta de um número de amostras suficientes para o estudo.

Em ambas as propriedades, os animais selecionados para o estudo foram bezerros recém-nascidos escolhidos aleatoriamente. Após o nascimento dos bezerros, estes eram contidos e examinada a sua região umbilical. Se constatada a presença de miíase causada por *Cochliomyia hominivorax*, eram coletadas amostras com swabs da região umbilical destes animais.

3.2 Coleta de amostras

Amostras individuais de exsudato foram realizadas, por meio de *swabs*, diretamente da miíase umbilical de bezerros naturalmente infestados por *Cochliomyia hominivorax*. Os *swabs* foram acondicionados em tubos de ensaio contendo meio de transporte (ágar nutriente), acondicionados em caixa de isopor com gelo e transportados até o Laboratório de Bacteriologia Veterinária da UFRRJ.

Na Fazenda Nhumirim foram coletadas 30 amostras e na Fazenda Santo Antônio foram coletadas 32 amostras.

3.3 Identificação Presuntiva

Próximo ao bico de Bunsen e ao abrigo da capela de exaustão, as amostras coletadas foram inoculadas em meios enriquecidos, seletivos e diferenciais; através do estriamento do próprio *swab* nestes meios

No isolamento primário foi utilizado ágar sangue ou ágar infusão de cérebro e coração (BHI); permitindo que todos os tipos de microorganismos crescessem. Para permitir o crescimento diferenciado dos microrganismos, foram utilizados o ágar MacConkey e o agar Manitol Vermelho de Fenol.

Após a incubação das placas em estufa a 37°C por 24 horas foram observadas as características morfológicas das colônias, como cor, bordas, forma e outras características fenotípicas que auxiliaram na identificação das espécies.

Posteriormente, de acordo com as características dos isolados, foram efetuados repiques em meios apropriados à observação dos aspectos fenotípicos característicos de cada gênero.

As colônias isoladas foram submetidas ao método de Gram, teste da catalase e hidróxido de potássio a 3%. De acordo com as características morfotintoriais e de crescimento



Figura 1. Criação extensiva de bovinos na Fazenda Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ.



Figura 2. Coleta de material do umbigo de um bezerro com miíase por *Cochliomyia hominivorax*

os isolados foram processados para melhor identificação. (KONEMAN et al., 2001; MANUAL DE MEIOS DE CULTIVO MERCK, 1994).

3.4 Identificação das Espécies de *Staphylococcus* spp.

As amostras foram cultivadas em ágar sangue de carneiro ou ágar infusão de cérebro e coração (BHI). As colônias isoladas foram semeadas em meios seletivos para *Staphylococcus* spp., para observação dos aspectos fenotípicos característicos do gênero. A identificação foi efetuada por meio do procedimento padrão: prova da coagulase livre e ligada, provas de redução de nitratos, VP, produção de urease e fermentação de açúcares.

3.5 Identificação das Espécies de *Streptococcus* spp.

A identificação dos isolados de *Streptococcus* spp. foi efetuada através do repique em meio seletivo para *Streptococcus* spp. (Caldo Azida), após isolamento e, posteriormente, através da inoculação em leite adicionado de azul de metileno e das provas de hidrólise de esculina e hipurato.

3.6 Identificação das Enterobactérias

Para as amostras suspeitas de enterobactérias, as seguintes provas de identificação foram realizadas: comportamento em ágar tríplice açúcar-ferro, motilidade em tubo, produção do Indol, produção de ácidos a partir da glicose, fermentação de açúcares, redução do nitrato, produção de gelatinase, produção de urease, degradação do citrato e do malonato, e outros diferenciais de acordo com o microrganismo envolvido.

3.7 Identificação dos Demais Grupos de Bactérias

Para os bastonetes Gram positivos isolados, não esporulados, foram realizados o teste da catalase, redução de nitrato, fermentação de açúcares, hidrólise da esculina e produção de Indol.

Para os bastonetes Gram positivos esporulados, foram realizados o teste da catalase, hidrólise da esculina, teste de motilidade e produção de ácido sulfídrico.

4. RESULTADOS

4.1 Material oriundo de mífase umbilical de bezerros da Fazenda Nhumirim, município de Corumbá-MS.

De um total de 30 amostras de exsudato coletadas dos bezerros recém-nascidos do rebanho da Embrapa Pantanal, houve crescimento de microrganismos em todas as amostras; mas não houve crescimento bacteriano em três amostras (10,00%) havendo nestas, entretanto, crescimento de leveduras.

Houve crescimento de leveduras em 12 (40,00%) das amostras; sendo que em três (10,00%) das amostras cresceram exclusivamente leveduras e, em nove amostras (30,00%) houve crescimento de leveduras associado com o desenvolvimento de bactérias.

Em 15 amostras (50,00%) houve o crescimento de um tipo de microrganismo, em nove amostras (30,00%) houve o crescimento de apenas dois tipos de microrganismo, em três amostras (10,00%) houve o crescimento de três tipos e em três amostras (10,00%) houve o desenvolvimento de quatro tipos de microrganismos. Não ocorreu o crescimento de mais que quatro tipos de microrganismos diferentes por amostra.

Dentre as 27 amostras onde houve crescimento bacteriano, 16 (59,26%) apresentaram desenvolvimento de apenas uma espécie; em oito amostras (29,63%) ocorreram o crescimento de 2 espécies e em 3 amostras (11,11%) houve o desenvolvimento de 3 espécies. Não houve crescimento de mais que 3 espécies diferentes de bactérias por amostra analisada (tabela 1).

Tabela 1. Prevalência do número de espécies bacterianas encontradas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal onde só houve crescimento bacteriano.

Nº de espécies	Freqüência absoluta	Freqüência relativa (%)
01	16	59,26
02	8	29,63
03	3	11,11

Das 41 colônias bacterianas obtidas e identificadas, houve um total de 11 gêneros; sendo o gênero *Bacillus* o mais frequente, com frequência de 29,27% do total de colônias identificadas; seguindo-se do gênero *Proteae* com frequência de 17,07% (tabela 2).

Tabela 2. Frequência relativa dos gêneros de bactérias de colônias identificadas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.

Gênero	Frequência relativa (%)
<i>Bacillus</i>	29,27
<i>Proteae</i>	17,0
<i>Escherichia</i>	9,76
<i>Citrobacter</i>	9,76
<i>Staphylococcus</i>	7,31
<i>Corynebacterium</i>	7,31
<i>Klebsiella</i>	4,88
<i>Lactobacillus</i>	4,88
<i>Shigella</i>	4,88
<i>Serratia</i>	2,44
<i>Streptococcus</i>	2,44

A frequência do gênero *Bacillus* no número total de amostras analisadas (n=30) foi de 40%; enquanto a da *Proteae* foi de 23,33% (tabela 3).

Tabela 3. Frequência encontrada por gênero bacteriano em relação ao total de amostras analisadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal

Gênero	Frequência relativa (%)
<i>Bacillus</i>	40,0
<i>Proteae</i>	23,33
<i>Escherichia</i>	13,33
<i>Citrobacter</i>	13,33
<i>Staphylococcus</i>	10,00
<i>Corynebacterium</i>	10,00
<i>Klebsiella</i>	6,67
<i>Lactobacillus</i>	6,67
<i>Shigella</i>	6,67
<i>Serratia</i>	3,33
<i>Streptococcus</i>	3,33

Considerando as características morfo-tintoriais e o total de colônias identificadas, a prevalência de cocos Gram-positivos foi de 9,76%, a de bacilos Gram-positivos foi de 41,46% e a de bacilos Gram-negativos foi de 48,78% (tabela 4).

Tabela 4. Frequência das características morfo-tintoriais em relação ao número de colônias identificadas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.

Características morfo-tintoriais	Frequência relativa (%)
cocos Gram-positivos	9,76
bacilos Gram-positivos	41,46
bacilos Gram-negativos	48,78

Considerando a prevalência por famílias, a família Enterobacteriaceae ocorreu em 60% das amostras, a família Bacillaceae ocorreu em 40% das amostras, as famílias Micrococcaceae e Corynebacteriaceae estiveram presentes em 10% das amostras e a família Streptococcaceae ocorreu em 3,33% das amostras analisadas (tabela. 5).

Tabela 5. Frequência de famílias de bactérias em relação ao número de amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.

Família	Frequência relativa (%)
Enterobacteriaceae	60,00
Bacillaceae	40,00
Micrococcaceae	10,00
Corynebacteriaceae	10,00
Streptococcaceae	3,33

Considerando a prevalência das famílias no total de colônias bacterianas isoladas e identificadas, a família Enterobacteriaceae correspondeu a 53,67% das colônias isoladas e identificadas, a família Bacillaceae correspondeu a 29,27% das colônias, as famílias Micrococcaceae e Corynebacteriaceae representaram, cada, 7,31% das colônias e a família Streptococcaceae correspondeu a 2,44% das colônias identificadas (tabela. 6, gráfico 1).

Tabela 6. Frequência de famílias em relação ao número de colônias identificadas das amostras coletadas de bovinos oriundos da Embrapa Pantanal.

Família	Frequência relativa (%)
Enterobacteriaceae	53,67
Bacillaceae	29,27
Micrococcaceae	7,31
Corynebacteriaceae	7,31
Streptococcaceae	2,44

4.2 Material oriundo de miíase umbilical de bezerros da Fazenda Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ.

De um total de 32 amostras de exsudato coletadas dos bezerros recém-nascidos, com idade até 15 dias, da criação da fazenda Santo Antônio, não houve crescimento de microrganismos em apenas uma amostra (3,13%). Das 31 amostras onde houve crescimento de microrganismos, não houve crescimento bacteriano em três amostras (13,33% do total). Houve crescimento de leveduras em 9 (28,13%) das amostras; sendo que, em 3 (9,38%) das amostras cresceram exclusivamente leveduras e em 6 amostras, 18,75% do total, houve crescimento de leveduras associado com o desenvolvimento de bactérias.

Dentre as 28 amostras onde houve crescimento bacteriano, 12 delas (42,86%) apresentaram desenvolvimento de apenas uma espécie bacteriana; em 15 amostras (53,57%) ocorreram o crescimento de apenas duas espécies bacterianas e em uma amostra (3,57%) houve o desenvolvimento de seis espécies de bactérias. Não houve crescimento de 3, 4,5 ou mais que 6 espécies diferentes de bactérias por amostra analisada (tabela 7).

Em 13 amostras (40,63%) houve o crescimento de apenas 1 tipo de microrganismo, em 14 amostras (43,75%) houve o crescimento de 2 tipos de microrganismo, em 3 amostras (9,38%) houve o crescimento de 3 tipos e em 1 amostra (3,13%) houve o desenvolvimento de mais que 3 tipos de microrganismos, crescendo-se exatamente 7 tipos de microrganismos.

Tabela 7. Frequência do número de espécies bacterianas encontradas nas amostras coletadas de bovinos da Faz. Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ, onde só houve crescimento bacteriano

Número de espécies	Frequência (%)
01	42,86
02	53,57
06	3,57

Das 48 colônias bacterianas obtidas e identificadas, houve um total de 10 gêneros diferentes; sendo o gênero *Bacillus* o mais prevalente, com frequência de 25% do total de colônias identificadas; seguindo-se do gênero *Micrococcus* com 22,92% de prevalência (tabela 8).

Tabela 8. Frequência encontrada por gênero bacteriano em relação ao número total de colônias identificadas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Fazenda Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ

Gênero	Frequência relativa (%)
<i>Bacillus</i>	25,00
<i>Micrococcus</i>	22,92
<i>Staphylococcus</i>	12,50
<i>Corynebacterium</i>	12,50
<i>Proteae</i>	6,25
<i>Enterococcus</i>	6,25
<i>Citrobacter</i>	6,25
<i>Serratia</i>	4,17
<i>Yersinia</i>	2,08
<i>Streptococcus</i>	2,08

A prevalência do gênero *Bacillus* no número total de amostras analisadas (n=32) foi de 37,5%; enquanto a do *Micrococcus* foi de 34,38% (tabela 9).

Tabela 9. Frequência encontrada por gênero bacteriano em relação ao número de amostras analisadas de bovinos oriundos da Fazenda Santo Antônio do município de Miguel Pereira-RJ

Gênero	Frequência relativa (%)
<i>Bacillus</i>	37,5
<i>Micrococcus</i>	34,38
<i>Staphylococcus</i>	18,75
<i>Corynebacterium</i>	18,75
<i>Proteae</i>	9,38
<i>Enterococcus</i>	9,38
<i>Citrobacter</i>	9,38
<i>Serratia</i>	6,25
<i>Yersinia</i>	3,13
<i>Streptococcus</i>	3,13

Considerando as características morfo-tintoriais e o total de colônias identificadas, a prevalência de cocos Gram-positivos foi de 43,75%, a de bacilos Gram-positivos foi de 37,5% e a de bacilos Gram-negativos foi de 18,75% (tabela 10).

Tabela 10. Frequência das características morfo-tintoriais em relação ao número de colônias identificadas nas amostras coletadas de bovinos oriundos da Fazenda Santo Antônio do município de Miguel Pereira-RJ

Características morfo-tintoriais	Frequência relativa (%)
cocos Gram-positivos	43,75
bacilos Gram-positivos	37,5
bacilos Gram-negativos	18,75

Considerando a prevalência por famílias, a família Enterobacteriaceae apareceu em 25% das amostras, a família Bacillaceae ocorreu em 37,5% das amostras, a família Micrococcaceae esteve presente em 40,63% das amostras, a família Corynebacteriaceae em 18,75% enquanto que a família Streptococcaceae ocorreu em 9,38% das amostras analisadas (tabela 11).

Tabela 11. Frequência das famílias bacterianas em relação ao número de amostras coletadas de bovinos oriundos da Fazenda Santo Antônio, município de Miguel Pereira-RJ

Família	Frequência relativa (%)
Enterobacteriaceae	25,00
Bacillaceae	37,50
Micrococcaceae	40,63
Corynebacteriaceae	18,75
Streptococcaceae	9,38

Considerando a prevalência das famílias no total de colônias bacterianas isoladas e identificadas, a família Enterobacteriaceae correspondeu a 18,17% das colônias isoladas e identificadas, a família Bacillaceae corresponde a 25,0% das colônias, a família Micrococcaceae representou 35,42% das colônias, Corynebacteriaceae correspondeu a 12,5% das colônias e a família Streptococcaceae corresponde a 8,33% das colônias identificadas (tabela. 12, gráfico 2).

Tabela 12. Frequência de famílias em relação ao número de colônias identificadas das amostras coletadas de bovinos oriundos Fazenda Santo Antônio do município de Miguel Pereira-RJ

Família	Frequência relativa (%)
Enterobacteriaceae	18,17
Bacillaceae	25,00
Micrococcaceae	35,42
Corynebacteriaceae	12,50
Streptococcaceae	8,33



Figura 3. Miíase umbilical por *Cochliomyia hominivorax* sem exsudato purulento.



Figura 4. Umbigo de bezerro sem miíase por *Cochliomyia hominivorax* com exsudato purulento.

5. DISCUSSÃO

Greenberg & Miggiano (1963) em um estudo com a mosca *Calliphora vicina*, um califorídeo, concluiu que os gêneros bacterianos *Escherichia*, *Aerobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus* e *Flavobacterium* estavam quase sempre associados com essa mosca. Caballero et al. (2002) trabalhando com um grande número de amostras de material colhido de miíases por *C. hominivorax*, concluiu que *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. foram as bactérias mais freqüentemente isoladas; e relacionou o freqüente aparecimento das últimas espécies à flora normal encontrada nas feridas por *C. hominivorax*. Estes autores observaram ainda que as bactérias Gram-negativas foram mais freqüentes que as Gram-positivas. Em nosso estudo, percebe-se o contrário, as bactérias Gram-positivas foram mais freqüentes que as Gram-negativas, destacando-se os gêneros *Bacillus* e *Micrococcus*, este considerado residente normal da microbiota da pele. Explica-se este fato pois a microbiota normal não é fixa, mas depende da interação entre uma sucessão de contato com contaminantes (GREENBERG & MIGGIANO, 1963; MIZUGUCHI, 1993); e os rebanhos estudados aqui tratavam-se de gado destinado ao abate, gado de corte, logo, estavam menos susceptíveis ao contato com contaminantes fecais e foram desenvolvidos com animais recém nascidos com até 15 dias de idade, onde a probabilidade do pouso de moscas sinantrópicas, pelo curto tempo de vida e pelo local, é menor que nas lesões provocadas nos animais adultos.

Bromel et al. (1983) isolaram algumas espécies bacterianas do fluido de feridas produzidas por *C. hominivorax* como *Proteae cloacae*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Proteus mirabilis* e *Escherichia coli*; sendo *Proteus mirabilis* e *Providencia rettgeri* as espécies predominantes nos fluidos das feridas. Em nosso estudo, não encontramos estas espécies, consideradas como as principais espécies que atraem moscas para oviposição (EDDY et al., 1975; HAMMACK, et al., 1987; HAMMACK, 1991); levando à conclusão de que outras espécies possam atrair, de modo eficaz, as moscas grávidas.

Mizuguchi (1993), isolando bactérias da família Enterobacteriaceae das lesões produzidas pela *C. hominivorax* em bovinos leiteiros, encontrou 7 gêneros, sendo a espécie mais freqüente a *Escherichia coli*, não encontrando mais que 3 diferentes tipos de bactérias por amostra. Em nosso estudo, observamos fato parecido, pois das 62 amostras analisadas, em apenas uma amostra foi encontrado mais que 3 espécies bacterianas distintas; levando-se à mesma conclusão de diversos autores, de que a miíase não é um lugar propício para o crescimento bacteriano, sendo seletiva para algumas espécies bacterianas (SIMMONS, 1935a e b; MIZUGUCHI, 1993; RUIZ-MARTINEZ et al., 1996).

Neste estudo, foi encontrado um total de 14 gêneros, um número muito limitado se considerarmos o grande número de gêneros bacterianos existentes.

Um dos fatores limitantes para o crescimento bacteriano é a produção de substâncias bactericidas nas miíases causadas por larvas de diferentes moscas (DUNCAN, 1926; SIMMONS, 1935; GREENBERG et al., 1970). Uma destas substâncias é a mirabilicina, produzida por *Proteus mirabilis*, que possui atividade ampla de ação e é ativada pela passagem no meio ácido intestinal das larvas da mosca-da-bicheira (ERDMANN et al., 1984). Neste caso, como não foi identificada a espécie *Proteus mirabilis*, pode-se concluir que outra espécie bacteriana produz substância que também limita a diversidade de espécies bacterianas por lesão. As bactérias Gram positivas são as mais sensíveis à mirabilicina, tanto que, bactérias altamente piogênicas

como o *Staphylococcus aureus* não são encontradas freqüentemente em miíases causadas por califorídeos (SIMMONS, 1935a e b; MONTEIRO, 2005; ERDMANN et al., 1984; SANCHO et al., 1996); sendo as larvas de moscas amplamente utilizadas no passado para o tratamento de feridas e processos piogênicos em humanos (SIMMONS, 1935a). Já na miíase causada pela *Dermatobia hominis*, onde o pH associado à postura é essencialmente ácido, desenvolvem-se mais freqüentemente *Staphylococcus* spp. (RUIZ-MARTINEZ et al., 1996; MONTEIRO, 2005). Em nosso estudo, a freqüência do gênero *Staphylococcus* spp. foi baixa, sendo este valor igual a 14,51% do total de amostras analisadas.

Outros fatores que explicariam o número limitado de bactérias por amostra seriam a lavagem mecânica pelo aumento de excreções e secreções teciduais devido à sua liquefação enzimática provocada pela própria estimulação larvar; a destruição do organismo no trato alimentar das larvas, o aumento do pH, o rápido desenvolvimento do tecido vascular de granulação e a utilização de tecidos necrosados como fonte alimentar proporcionando condições menos favoráveis ao crescimento bacteriano (SIMMONS, 1935). Não encontrou-se a ocorrência de pus no umbigo dos bezerros com miíase, mas foi encontrado freqüentemente naqueles umbigos onde não ocorria a presença da miíase causada pela *Cochliomyia hominivorax*. Também não encontramos a ocorrência de infecções secundárias durante e após a ocorrência da miíase nos animais observados.

Outro fator que chamou a atenção foi a baixa freqüência da espécie *Escherichia coli* encontrada em nosso estudo, citada freqüentemente por Mizuguchi (1993); acreditamos ocorrer esta baixa freqüência pelo tipo de manejo do gado de corte em relação ao gado de leite e o menor contato com moscas sinantrópicas e fezes.

Apesar de não encontrarmos infecções secundárias nos bezerros estudados, importantes espécies bacterianas patogênicas foram isoladas.

O *Enterobacter agglomerans*, recentemente denominado *Pantoea agglomerans*, já foi responsável por um surto de septicemia de alcance nacional associado à líquidos intravesosos contaminados (KONEMANN et al., 2001). O *Citrobacter freundii* é uma possível causa de diarreia e de infecções extra intestinais, sendo uma das espécies comumente identificadas a partir de material de todos os sítios do corpo, exceto nas fezes (KONEMANN et al., 2001). *Yersinia enterocolitica*, a espécie mais comum do gênero, é amplamente encontrada distribuída em lagos e reservatórios de água, podendo ocasionar surtos epizooticos de diarreia, linfadenopatias, pneumonia e abortos espontâneos em diferentes espécies animais., os suínos parecem ser o principal reservatório da infecção (KONEMANN et al., 2001). *Escherichia coli* é um dos microrganismos comumente envolvidos em septicemias por Gram-negativos e em choque induzido por endotoxinas (KONEMANN et al., 2001). *Staphylococcus intermedius* é encontrado como parte da microbiota de cães, visões, cavalos e gatos; pode causar infecções cutâneas, urinárias, ósseas e do sistema nervoso central em várias espécies animais; sendo predominantemente isolado a partir da pele canina infectada e normal (KONEMANN et al., 2001).

O gênero *Bacillus* foi o mais prevalente nas amostras analisadas e, segundo muitos autores, é o gênero mais citado como indutor de oviposição em laboratório (EDDY et al. 1975; EMMENS et al. 1982). Devido a sua freqüência em nosso estudo e à ausência das espécies *Proteus mirabilis* e *Providencia rettgeri*, as mais freqüentemente encontradas nos fluidos das miíases e consideradas as mais importantes na atração das fêmeas grávidas de *C. hominivorax* (BROMEL et al., 1983; EDDY et al. 1975; EMMENS et al. 1982), podemos concluir que as espécies de *Bacillus* estão não só intimamente relacionadas com a oviposição das fêmeas grávidas mas, também, estão envolvidas na atração da *C. hominivorax* às lesões do hospedeiro.

6. CONCLUSÕES

As espécies do gênero *Bacillus* e *Micrococcus* foram as mais frequentemente identificadas.

Um total de 5 famílias e 14 gêneros foram identificados.

A maior frequência foi das Enterobactérias, em especial da espécie *Proteae agglomerans*.

Não foram observadas características de infecções secundárias nos animais do experimento.

As bactérias patogênicas *Proteae agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus intermedius* foram encontradas nas amostras dos fluidos das feridas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, T. S.; REINECKE, J. P. The reproductive physiology of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, v. 15, n. 5-6, p. 472-483, 1979.

BROMEL, M.; DUH, F. M.; ERDMANN, G. R.; HAMMACK, L.; GASSNER, G. Bacteria associated with the screwworm fly *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) and their metabolites. *Endocitobiology*, v. 2, p. 791-800. Walter de Gruyter Company, Berlin, 1983.

CABALLERO, M.; HERNANDEZ, G.; POUDEVIGNE, F.; RUIZ-MARTINEZ, I. Isolation and identification of bacteria associated with the screwworm fly *Cochliomyia hominivorax*, Coquerel and its myiasis. *Annals New York Academy of Sciences*, v. 791, p. 248-254, 1996.

CHAUDHURY, M. F.; WELCH, J. B.; ALVAREZ, L. A. Responses of fertile and sterile screwworm (Diptera: Calliphoridae) flies to bovine blood inoculated with bacteria originating from screwworm-infested animal wounds. *Journal of Medical Entomology*, v. 39, n. 1, p. 130-134, 2002.

CRAMER-RIBEIRO, B. C.; SANAVRIA, A.; OLIVEIRA, M. Q.; SOUZA, F. S.; ROCCO, F. S.; CARDOSO, P. G. Inquérito sobre os casos de miíases por *Cochliomyia hominivorax* em gatos das zonas norte, sul e oeste e do centro do município do Rio de Janeiro no ano 2000. *Brazilian Journal of veterinary Research animal Science*, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 165-170, 2002a.

CRAMER-RIBEIRO, B. C.; SANAVRIA, A.; OLIVEIRA, M. Q.; SOUZA, F. S.; ROCCO, F. S.; CARDOSO, P. G. Inquérito sobre os casos de miíases por *Cochliomyia hominivorax* em cães da zona sul do município do Rio de Janeiro no ano 2000. *Brazilian Journal of veterinary Research animal Science*, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 171-175, 2002b.

COPPEDGE, J. R.; AHRENS, E.; GOODENOUGH, J. L.; GUILLOT, F. S.; SNOW, J. W. Field comparisons of liver and a new mixture as attractants for the screwworm fly. *Environment Entomology*, v. 6, n. 1, p. 66-68. 1977.

DE VANEY, J. A.; EDDY, G. W.; ELLIS, E. M.; HARRINGTON, Jr., R. Attractancy of inoculated and incubated bovine blood fraction to screwworm flies (Diptera:

Calliphoridae): role of bacteria. *Journal of Medical Entomology*, v. 10, n. 6, p. 591-595, 1973.

DE VANEY, J. A.; EDDY, G. W.; HANDKE, B. D.; LOPEZ, E. Olfactory responses of the adult screwworm after removal of the antennae, mouthparts, tarsi, and legs. *Journal of Economic Entomology*, v. 63, n. 6, p. 1816-1819, 1970.

DUNCAN, J. T. On a bacteria principle present in the alimentary canal of insects and arachnids. *Parasitology*, v. 18, p. 238-252, 1926.

EDDY, G. W.; DE VANEY, J. A.; HANDKE, B. D. Response of the adult screwworm (Diptera: Calliphoridae) to bacteria-inoculated and incubated bovine blood in olfactometer and oviposition tests. *Journal of Medical Entomology*, v. 12, n. 3, p. 379-381, 1975.

EISEMANN, C. H. & RICE, M. J. The origin of sheep blowfly, *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), attractants in media infested with larvae. *Bulletin of entomological Research*, v. 77, p. 287-294, 1987.

EMMENS, R. L. & MURRAY, M. D. The role of bacterial odours in oviposition by *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), the Australian sheep blowfly. *Bulletin of entomology Research*, v. 72, p. 367-375, 1982.

ERDMANN, G. R.; BROMEL, M.; GASSNER, G.; FREEMAN, T. P.; FISCHER, A. Antibacterial activity demonstrated by culture filtrate of *Proteus mirabilis* isolated from screwworm (*Cochliomyia hominivorax*) (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Journal of Medical Entomology*, v. 21, n. 2, p. 159-164, 1984.

ERDMANN, G. R. & KHALIL, S. K. W. Isolation and identification of two antibacterial agents produced by a strain of *Proteus mirabilis* isolated from larvae of the screwworm (*Cochliomyia hominivorax*) (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, v. 23, n. 2, p. 208-211, 1986.

FORTES, E. *Parasitologia Veterinária*. 3. ed. Editora Icone, 1997, 681p.

GALVIN, T. J. & WYSS, J. Screwworm eradication program in Central America. *Annals New York Academy of Sciences*, v. 791, p. 241-247, 1996.

GJULLIN, C. M.; JOHNSON, J. O.; PLAPP, F. W. The effect of odors released by various waters on the oviposition sites selected by two species of *Culex*. *Mosquito News*, v. 25, p. 268-271, 1965.

GREENBERG, B.; KOWALSKI, J. A.; KLOWDEN, M. J. Factors affectin the transmission of *Salmonella* by flies: Natural resistance to colonization and bacterial interference. *Infection Immunology*, v. 2, p. 800-809, 1970.

GREENBERG, B.& MIGGIANO, V. Host-contaminant biology of muscoid flies. IV. Microbial competition in a blowfly. *Journal of Infection Disease*, v. 112, p. 37-48, 1963.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, v. 21, n. 125, p. 8-10, 2002.

GUILLOT, F. S.; BROWN, H. E.; BROCE, A. B. Behavior of sexually active male screwworm flies. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 71, n. 2, p. 199-201, 1978.

GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N.; PRADO, A. P. As miíases na região neotropical (identificação, biologia, bibliografia). *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 1, p. 239-416, 1983.

GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. *Myiasis in man and animals in the neotropical region*. São Paulo: Editora Plêiade. 1999. 308p.

HALL, M. J. R.; FARKAS, R.; KELEMEN, F.; HOSTER, M. J.; EL-KHOQA, M. Orientation of agents of wound myiasis to hosts and artificial stimuli in Hungary. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 9, p. 77-84, 1995.

HALL, M. & WALL, R. Myiasis of humans and domestic animals. *Advances in Parasitology*, v. 35, p. 257-334, 1995.

HAMMACK, L. Oviposition by screwworm flies (Diptera: Calliphoridae) on contact with host fluids. *Journal of Economic Entomology*, v. 84, n. 1, p. 185-190, 1991

HAMMACK, L.; BROMEL, M.; DUH, F. M.; GASSNER, G. Reproductive factors affecting responses of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera:

Calliphoridae), to an attractant of bacterial origin. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 80, n. 6, p. 775-780, 1987.

HAMMACK, L. Protein feeding and oviposition effects on attraction of screwworms flies (Diptera: Calliphoridae) to host fluids. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 83, n. 1, p. 97-102, 1990.

HOLT, G. G.; ADAMS, T. S.; SUNDET, W. D. Attraction and ovipositional response of screwworms, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), to simulated bovine wounds. *Journal of Medical Entomology*, v. 16, n. 3, p. 248-253, 1979.

HOYT, C. P.; OSBORNE, G. O. Production of an insect sex attractant by symbiotic bacteria. *Nature*, v. 230, p. 472-473, 1971.

JONES, C.M.; OEHLER, D. D.; SNOW, J. W.; GRABBE, R. R. A chemical attractant for screwworm flies. *Journal of Economic Entomology*, v. 69, n. 3, p. 389-391, 1976.

KONEMAN, E. W.; JANDA, S. D.; SCHRECKENBERGER, W. M.; WINN JR, P. C. *Diagnóstico Microbiológico*. 5 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

LANDI, S. Bacteriostatic effect of haemolymph of larvae of various botflies. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 6, p.115-119, 1960.

MANUAL DE MEIOS DE CULTIVO – MERCK. Darmstadt: Editora Merck, 1994. 126 p.

MAW, M. B. Capric acid as a larvicide and an oviposition stimulant for mosquitoes. *Nature*, v. 230, p. 1154-1155, 1970.

MIZUGUCHI, N. G. R. Pesquisa de Enterobacteriaceae nas lesões produzidas pela mosca da bicheira *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae), em bovinos. 28p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro. 1993.

MONTEIRO, H. H. M. S. Microbiota Bacteriana Associada às Larvas de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781) (Diptera: Cuterebridae) em Bovinos no Município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.32p.Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro. 2005.

MOYA-BORJA, G. E. Erradicação ou manejo integrado das miíases neotropicais das Américas? *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 23, n. 32, p. 131-138, 2003.

MYERS, J. H. Eradication and pest management. *Annual Review in Entomology*, v. 43, p. 471-491, 1998.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. *Parasitologia humana*. 9. ed. Editora Atheneu, 1995. 524p.

OLIVEIRA, C. M. B. Biologia, flutuação populacional e patologia da *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae). 129 p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro. 1980.

PARALUPPI, N. D.; VASCONCELOS, J. C.; AQUINO, J. S.; CASTELLÓN, E. G.; SILVA, M. S. B. Calliphoridae (Diptera) in Manaus: IV. Bacteria isolated from blowflies collected in street markets. *Acta Amazônica*, v. 26, n. 1-2, p. 2-6, 1996.

PARKER, F. D. & WELCH, J.B. Influence of attractants on behavior of screwworms (Diptera: Calliphoridae) in a tropical wet forest in Costa Rica. *Journal of Economic Entomology*, v.84, p. 1189-1195, 1991.

PICCININI, R. S. Associação entre o morcego hematófago *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy, 1810) (Chiroptera: Phyllostomidae) e a “mosca-da-bicheira” *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) e aspectos bioeconômicos de suas miíases. 233p. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro.1988.

RUÍZ-MARTINEZ, I.; GÓMEZ, F.; PÉREZ, J. M.; POUDEVIGNE, F. A. The role of botfly myiasis due to *Dermatobia hominis* L.Jr. (Diptera: Cuterebridae) as a predisposing factor to new world screwworm myiasis *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera: Calliphoridae). *Annals New York Academy of Sciences*, v. 791 , p. 434-442, 1996.

SANCHO, E.; CABALLERO, M.; RUÍZ-MARTINEZ, I. The associated microflora to the larvae of human bot fly *Dermatobia hominis* L. Jr. (Diptera: Cuterebridae) and its Furuncular Lesions in Cattle. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, v. 97, n. 3, p. 293-298, 1996.

SCHRECK, C. E.; JAMES, J. Broth cultures of bacteria that attract female mosquitoes. *Mosquito News*, v. 28, n. 1, p. 33-38, 1968.

SCHULLER, L. As moscas domésticas e sua importância na transmissão de intoxicações e infecções alimentares. *Higiene Alimentar*, v. 14, n. 72, p. 28-38, 2000.

SIMMONS, S. W. A bactericidal principle in excretions of surgical maggots which destroys important etiological agents of pyogenic infections. *Journal of Bacteriology*, v. 30, p. 253-267, 1935a.

SIMMONS, S. W. Bactericidal properties of excretions of the maggot of *Lucilia sericata*. *Bulletin of Entomology Research*, v. 26, p. 559-563, 1935b.

STEELMAN, C. D. Effects of external and internal arthropod parasites on domestic livestock production. *Annual Reviews in Entomology*, v. 21, p. 155-178, 1976.

THOMAS, D. B. & MANGAN, R. L. Oviposition and wound-visiting behaviour of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). *Annals of the Entomological Society of America*, v. 82, n. 4, p. 526-534, 1989.

VERÍSSIMO, C. J. & FRANCO, A. V. M. Relação entre infestação pelo carrapato *Boophilus microplus* e ocorrência de míases em bovinos mestiços, *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, SP, v. 51, n. 1, p. 3-5, 1994.

WYSS, J. H. Screwworm eradication in the Americas. *Annals New York Academy of Sciences*, v. 916, p. 186-193, 2000.

8. ANEXOS

Nº da amostra	Espécie bacteriana
01	<i>Proteae agglomerans, Streptococcus spp.</i> (saprófita)
02	<i>Bacillus spp., Staphylococcus spp.</i> coagulase negativo
03	levedura
04	<i>Proteae agglomerans</i>
05	<i>Staphylococcus spp.</i> coagulase negativo
06	<i>Proteae agglomerans, levedura</i>
07	levedura
08	levedura
09	<i>Citrobacter diversus</i>
10	<i>Corynebacterium xerosis</i>
11	<i>Bacillus spp.</i>
12	<i>Shigella spp.</i>
13	levedura, <i>Klebsiella oxytoca</i>
14	<i>Bacillus spp.</i>
15	<i>Lactobacillus spp., Citrobacter freundii, Escherichia coli</i> e levedura
16	<i>Lactobacillus spp., Citrobacter freundii, Escherichia coli</i> e levedura
17	<i>Bacillus spp., Corynebacterium xerosis</i>
18	<i>Staphylococcus spp.</i> coagulase negativo, <i>Bacillus spp., levedura, Klebsiella oxytoca</i>
19	<i>Bacillus spp., Escherichia coli</i>
20	<i>Proteae agglomerans</i>
21	<i>Bacillus spp.</i>
22	<i>Citrobacter amalonaticus</i>
23	<i>Escherichia coli</i>
24	<i>Shigella spp.</i>
25	<i>Proteae agglomerans, levedura, Bacillus spp.</i>
26	<i>Serratia rubidaea, Bacillus spp., levedura</i>
27	<i>Bacillus spp., Proteae agglomerans</i>
28	<i>Proteae agglomerans, levedura</i>
29	<i>Bacillus spp., levedura</i>
30	<i>Corynebacterium xerosis, Bacillus spp, levedura</i>

Quadro 1. Microbiota isolada das miíases umbilicais oriundas da Embrapa Pantanal.

Nº da amostra	Espécie bacteriana
01	<i>Bacillus licheniformis</i> , levedura
02	<i>Bacillus licheniformis</i>
03	levedura, <i>Staphylococcus xylosus</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
04	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Staphylococcus capitis</i>
05	<i>Proteae agglomerans</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
06	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp.
07	<i>Corynebacterim</i> spp., <i>Serratia rubidaea</i> , <i>Streptococcus</i> spp. saprófita, <i>Enterococcus sakazakii</i> , <i>Bacillus sphaericus</i> , levedura, <i>Micrococcus</i> spp.
08	<i>Corynebacterim</i> spp
09	<i>Micrococcus</i> spp.
10	NÃO HOUVE CRESCIMENTO DE MICROORGANISMOS
11	<i>Corynebacterium xerosis</i> , <i>Bacillus</i> spp, levedura
12	<i>Bacillus licheniformis</i>
13	levedura
14	levedura
15	<i>Serratia rubidaea</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
16	<i>Corynebacterium xerosis</i>
17	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Staphylococcus capitis</i>
18	<i>Enterococcus sakazakii</i> , <i>Bacillus sphaericus</i>
19	<i>Bacillus</i> spp,
20	<i>Proteae agglomerans</i> , <i>Bacillus</i> spp, levedura
21	levedura
22	<i>Bacillus licheniformis</i>
23	<i>Staphylococcus xylosus</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
24	<i>Bacillus licheniformis</i> , levedura
25	<i>Enterococcus sakazakii</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
26	<i>Proteae agglomerans</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
27	<i>Bacillus</i> spp.
28	<i>Corynebacterium xerosis</i>
29	<i>Bacillus</i> spp.
30	<i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i>
31	<i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i>
32	<i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i>

Quadro 2. Microbiota isolada das míases umbilicais oriundas do município de Miguel Pereira-RJ