

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
VETERINÁRIA**

DISSERTAÇÃO

**MICROBIOTA VAGINAL DE CABRAS NAS FASES DO
PROESTRO, PÓS-CÓPULA E PÓS-PARTO**

MARCELO CARVALHO GOMES

2006



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
VETERINÁRIA**

**MICROBIOTA VAGINAL DE CABRAS NAS FASES DO
PROESTRO, PÓS-CÓPULA E PÓS-PARTO**

MARCELO CARVALHO GOMES

Sob a Orientação da Professora
Glória Maria Direito

Co-orientação do Professor
Marcelo Elias Fraga

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Curso de Pós-graduação em Microbiologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Março de 2006

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA**

MARCELO CARVALHO GOMES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Curso de Pós-graduação em Microbiologia Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/03/2006.

Prof. Marcelo Elias Fraga Dr. UFRRJ

Prof. Luis Celso Hygino da Cruz Dr.
Universidade Estácio de Sá - RJ

Profª. Lilia Renée Cavaglieri Dra.
Universidad Nacional de Rio Cuarto - AR

DEDICATÓRIA

A minha querida esposa Tatiani Abreu Gomes e minhas filhas Victória e Maria Eduarda pelo amor, incentivo e compreensão; Aos meus pais, Antonio Teixeira Gomes e Zilma Madalena Carvalho Gomes pelo amor, apoio e dedicação; Aos meus amigos por todo o carinho.

AGRADECIMENTOS

*Meus mais profundos agradecimentos a Aquele que está sempre presente em minha vida, que direcionou este trabalho e que mais uma vez me mostrou ter propósitos muito maiores do que imagino em cada situação que coloca diante de mim. Obrigado Senhor Deus por ter me capacitado até aqui.

*À minha querida esposa, Tatiani Abreu Gomes, companheira fiel de batalhas diárias, pelo incentivo, pelo amor, pelas orações e dedicação. Entendo ser esta uma vitória nossa.

*Às minhas filhas, tesouros de minha vida, Victória Abreu Gomes e Maria Eduarda Abreu Gomes pela compreensão de minha ausência e pelo amor incondicional.

*Aos meus pais que sempre investiram em minha formação. E que com amor imensurável sempre nos apoiaram nas mais diversas circunstâncias.

*À professora Dra. Glória Maria Direito, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária da UFRRJ pela compreensão e colaboração.

*Ao Professor Dr. Marcelo Elias Fraga, do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária da UFRRJ, que me encorajou a iniciar este projeto e com tranquilidade, simplicidade e total dedicação me ajudou em cada passo, obrigado pela orientação.

*Aos funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária e do Projeto Sanidade Animal.

*À Professora Dra. Miliane Moreira Soares de Souza, do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária da UFRRJ pela amizade e pelo incentivo em explorar a face bacteriológica deste trabalho.

*À Professora Dra. Vera Lúcia Teixeira de Jesus, da área de Fisiopatologia da Reprodução do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, sempre pronta a tornar as coisas mais simples do que pareciam. Obrigado pela ajuda e pelo carinho.

*Aos Professores Josué Lopes de Castro e Ricardo Crivano Albieri, ambos do tão querido Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, de quem recebi ensinamentos que trago até hoje, meu muito obrigado pela colaboração.

*Ao Professor Dr. Francisco de Assis Baroni, do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária da UFRRJ pelo auxílio na identificação das leveduras.

*Ao Professor Dr. Walter Leira Teixeira Filho do Departamento de Parasitologia da UFRRJ pela coloração das lâminas da colpocitologia.

*Às minhas queridas Lígia Portugal Gomes e Shana Mattos de Oliveira Coelho a quem considero como irmãs. Sem vocês muitas etapas seriam praticamente intransponíveis. Vocês estão sem dúvida entre as coisas de maior valor que levo daqui.

*Às amigas Maura Menezes Rodrigues, Lidiane Soares, Ingrid Annes Pereira, estagiárias do Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Veterinária da UFRRJ por todo o apoio, carinho e atenção.

BIOGRAFIA

Marcelo Carvalho Gomes, filho de Antonio Teixeira Gomes e Zilma Madalena Carvalho Gomes, nasceu em 12 de julho de 1973 em Petrópolis /RJ.

Iniciou suas atividades escolares no Colégio de Aplicação da Universidade Católica de Petrópolis, onde concluiu o primeiro grau.

Cursou o segundo grau Técnico em Agropecuária no Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro de 1988 a 1990.

Em 1991 iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, concluindo-o em 1996.

A partir de 1997 passou a exercer a Clínica Médica e Cirúrgica de Animais de companhia e de produção, em clinica própria, na cidade de Paracambi/RJ.

Em 2003 prestou seleção para o curso de pós-graduação em Microbiologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde foi selecionado, iniciando suas atividades em 2004.

Em 2005 foi Superintendente de Controle de Zoonoses do Município de Paracambi/RJ.

RESUMO

GOMES, Marcelo Carvalho. **Microbiota vaginal de cabras nas fases do proestro, pós-cópula e pós-parto**. 2006. 29p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

O presente trabalho foi desenvolvido em três criatórios caprinos distintos, de onde tomamos 27 fêmeas e 2 machos a fim de identificar a microbiota presente no prepúcio de bodes e na cavidade vaginal de cabras em três fases do ciclo estral: fevereiro de 2005 no proestro, maio de 2005 após a cópula e outubro de 2005 após o parto. As amostras foram coletadas através de swab, lavado vaginal e prepucial para o estudo da microbiota e com escovas ginecológicas para o estudo colpocitológico das fêmeas. Os dois gêneros de bactérias de maior prevalência foram os seguintes: *Micrococcus* spp. (89,65 %) e *Bacillus* spp. (29,90 %). Os dois gêneros de fungos de maior prevalência foram *Cladosporium* spp. (26,39 %) e *Aspergillus* spp. (11,46 %). No estudo colpocitológico para bactérias, em 76 % das investigações houve concordância entre os achados microscópicos e isolamento bacteriano. Em 89 % dos animais avaliados foi observada a presença de leveduras nas lâminas, mas houve isolamento em apenas 7,4 % dos animais. Em 53 % das investigações da presença de hifas houve concordância entre a observação de hifas e o isolamento de fungos filamentosos. A microbiota fúngica e bacteriana encontrada no presente trabalho evidenciou a diversidade da microbiota vaginal e prepucial de caprinos e aponta para o fato de que podem ser carreados durante a cópula. Observou-se que o número de espécies isoladas de bactérias é superior na fase de pós-cópula enquanto que em fungos observamos este aumento no pós-parto; O resultado da citologia vaginal teve correlação com o isolamento bacteriano, observada pela presença de cocos e bacilos nas lâminas com crescimento bacteriano positivo; Bactérias potencialmente patogênicas como *Pseudomonas alcaligenes*, *P. aeruginosa* e *Corynebacterium* spp. foram encontrados na cavidade vaginal de cabras híidas, assim como fungos oportunistas como *Aspergillus flavus*.

Palavras chave: fungo, bactéria, colpocitologia, caprino.

ABSTRACT

GOMES, Marcelo Carvalho. **Goats vaginal microbiota in pro-estrus, post-copula and post-partum phases.** 2006. 29p. Dissertation (Master Science in Veterinary Microbiology). Instituto de Veterinária, Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

The present work was carried out in three different goat raisings and 27 females and 2 males were selected for identifying the present microbiota in the preputial and vaginal cavity of goats under three estrous cycle phases: In February, 2005 in the pro-estrus, in May, 2005 in the post-copula and in October, 2005 in the post-partum. The samples were collected by swabs as well as vaginal and preputial washings for studying microbiota and by gynecological brushes for the females esfoliative cytological study. The two greatest bacteria genera prevalence were: *Micrococcus* spp (89,65 %) following by *Bacillus* spp. (29,90 %). Filamentous fungi as *Cladosporium* spp. (26,39 %) and *Aspergillus* spp. (11,46 %) were the most isolated. On the bacteria cytological test about 76 % of the investigations have been in accordance with the microscopic finding and bacteria isolation. In 89% appraised animal some yeasts presence on sheets was observed in spite of there was isolation just in 7,4 % of the animals. There was similarity between hifas observation and filamentous fungi isolation, in regarding to 53 % of hifas presence investigations. The bacterial and fungical microbiota found on this survey showed the goats vaginal and preputial microbiota diversity and pointed out to the fact that it might be carried during copulation. The number of isolated bacteria species in the post-copulation phase was upper, as well as for yeasts. The vaginal cytology performed significative association in relation to the bacterial isolation, observed by cocos and bacilli presence on the sheets with positive growth. Bacteria potentially pathogenic as *Pseudomonas alcalinigenes*, *P. aeruginosa*, and *Corynebacterium* spp. as well as opportunist fungi as *Aspergillus flavus* in healthy goats vaginal cavity were found.

Key words: fungi, bacteria, cytological esfoliative, caprine.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 01 – Gráfico da frequência absoluta dos fungos isolados nas três coletas	13
Figura 02 – Gráfico da frequência absoluta das bactérias isoladas nas três coletas	17
Figura 03 – Gráfico da frequência absoluta dos microrganismos isolados nas três diferentes coletas	19
Tabela 01 - As espécies de fungos isolados nas três diferentes coletas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal.	11
Tabela 02 - Frequência de isolamento fúngico nas três diferentes coletas realizadas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal	12
Tabela 03 - Frequência de isolamento bacteriano nas três diferentes coletas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal	14
Tabela 04 - As espécies de bactérias isoladas nas três diferentes coletas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal.	15
Tabela 05 - Microrganismos e estruturas observadas no estudo colpocitológico	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
3 MATERIAL E MÉTODOS	6
3.1 Amostragem	6
3.2 Coleta de material	6
3.2.1 Coleta com escova ginecológica	6
3.2.2 Coleta com swab	7
3.2.3 Coleta por lavado vaginal	7
3.2.4 Coleta no macho	7
3.3 Processamento das amostras	7
3.3.1 Análise bacteriológica	7
3.3.1.1 Etapa de identificação	7
3.3.2 Análise micológica	8
3.3.3 Análise citológica vaginal	8
3.3.3.1 Microrganismos	8
4 RESULTADOS	10
5 DISCUSSÃO	20
6 CONCLUSÕES	22
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
ANEXO 01	28
ANEXO 02	29

1. INTRODUÇÃO

A caprinocultura remonta aos tempos anteriores a Cristo, quando os povos nômades utilizavam estes animais como fonte de alimento (carne, leite) para confecção de apetrechos e vestimentas com o couro e para o transporte de pequenas cargas. Hoje, a caprinocultura tem importância ímpar como criação de subsistência no nordeste brasileiro, às vezes como única fonte de proteína animal sob a forma de carne, leite e seus subprodutos e fornecendo através do couro a vestimenta adequada à caatinga, para o sertanejo.

O Brasil tem mais de 12,6 milhões de caprinos. De 1980 a 1992 houve um aumento de 51,6 % na produção nacional indicando um crescente interesse na atividade. O Brasil produz 141 mil toneladas de leite de cabra ao ano. De acordo com o Departamento de Agricultura dos EUA, o leite de cabra é o leite mais consumido no mundo. Seu maior rebanho está na África e Ásia onde a densidade populacional é maior e sua criação é de subsistência (FAO, 2000).

O interesse pela criação de pequenos ruminantes vem crescendo nos últimos anos, todavia são escassas as informações sobre a microbiota vaginal de cabras híginas. Embora os animais apresentem defesa contra tais agentes, a presença de microrganismos no trato genital é normal. Alguns animais, no entanto, apresentam os mecanismos de defesa alterados, facilitando a multiplicação destes e possibilitando a instalação de infecções oportunistas que podem se apresentar sob forma clínica ou subclínica.

O aborto, a infertilidade ou outros comprometimentos no aparelho reprodutor dos animais podem ser provocados por vários microrganismos, pertencentes à microbiota natural ou não. Muitos destes microrganismos acometem os animais quando o ambiente não é mantido em condições sanitárias ideais, podendo afetá-los em qualquer fase do ciclo estral.

O conhecimento da microbiota está diretamente relacionado à associação das espécies encontradas como agentes potencialmente patogênicos nas fêmeas e que podem ser disseminadas para todo o rebanho através da cópula, uma vez que poucos reprodutores são utilizados para a cobertura de várias fêmeas. O conhecimento das condições sanitárias do rebanho pode se tornar uma efetiva estratégia para exclusão de doenças (endometrites, cervicites, vaginites e vulvovaginites) e até o aborto, que pode afetar o desenvolvimento reprodutivo e a produção de carne, leite, couro e etc.

O objetivo deste trabalho foi isolar e identificar a microbiota vaginal de cabras híginas nas fases de proestro, pós-cobertura e pós-parto e do prepúcio de machos, fazendo a associação com os achados colpocitológicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Em condições normais, a microbiota vaginal apresenta composição e número variável e os microrganismos encontrados neste ambiente também podem estar presentes na pele, fezes e cavidade oral (RAMASWAMY et al., 1991; SHARDA et al., 1991; BALASSU et al., 1992; CAMPERO et al., 1992; KUNZ et al., 2002). No campo da microbiologia do trato reprodutivo das fêmeas, o conhecimento da microbiota normal pode ser considerado um requisito básico para se estabelecer diagnósticos apropriados e possibilitar indicações de tratamentos para as patologias infecciosas (DOYLE et al., 1991). A função da microbiota vaginal é incerta, mas deve ser considerada como protetora (HIRSH, 2003). Em uma análise microbiológica a correta interpretação dos resultados requer o histórico do indivíduo, pois as bactérias isoladas de um animal com alterações reprodutivas são as mesmas em amostras de animais saudáveis (BJURSTRÖM, 1993). Estes microrganismos existem em um balanço natural com o hospedeiro, e podem até protegê-lo de infecções (BJURSTRÖM & LINDE-FORSBERG, 1993).

Cadelas com vaginites apresentam microrganismos quantitativa e qualitativamente semelhantes à microbiota bacteriana vaginal normal, o que justifica o interesse na sua identificação (NELSON & COUTO, 1992). Não se sabe por que ou quando este equilíbrio se desfaz e os agentes bacterianos se tornam patogênicos (MELLO, 2005). Desta forma o isolamento de patógenos oportunistas não é prova de infecção, embora o crescimento maciço de um único agente possa ser significativo (BABA, 1994). Há grande importância da distinção entre os microrganismos contaminantes daqueles que estejam realmente provocando agressão e reposta inflamatória (ALVARENGA, 1996).

A microbiota vaginal normal protege este ambiente contra bactérias patogênicas, mas pode tornar-se causadora de doença quando os animais apresentam comprometimento imunológico, em decorrência do estresse causado por fatores variados tais como: súbitas mudanças de temperatura, nutrição deficiente, final de gestação, parto e doenças infecciosas (VERMA et al., 1994; LIANJUAN et al., 1995).

O maior número de microrganismos frequentemente isolados da mucosa vaginal constitui-se de bastonetes gram-negativos provenientes do trato gastro-intestinal, especialmente *Escherichia coli* e gram-positivos como *Streptococcus* spp. (RAMASWAMY et al., 1991; SHARDA et al., 1991; BALASSU et al., 1992; CAMPERO et al., 1992; KUNZ et al., 2002).

A vaginite representa uma importante doença com influência na reprodução e o conhecimento relativo aos agentes microbianos que habitam contínua ou ocasionalmente o ambiente vaginal dos animais é relevante para melhor entender essa patologia (MORAES, 2004).

O papel de bactérias e fungos no desenvolvimento de doenças reprodutivas não está totalmente elucidado. Como consequência disso, fêmeas com distúrbios reprodutivos são tratadas com antibióticos e antifúngicos, especialmente quando estes microrganismos são encontrados em amostras vaginais, eliminando desta forma os microrganismos naturalmente encontrados neste ambiente e favorecendo a proliferação de bactérias e fungos patogênicos (HOLST et al., 2003).

O abortamento micótico por *Aspergillus* spp., *Candida* spp., Zigomicetes e outras leveduras e fungos filamentosos já foi descrito em bovinos e bubalinos (AINSWORTH & AUSTWICK, 1973), bem como casos de endometrites e cervicites provocadas por fungos (COLLINS, 1964; BLUE, 1983; PUGH et al., 1986).

Segundo CRUZ e ROSA (1981) no Brasil não há um trabalho sistemático sobre causas de aborto e, por isso, não sabemos a importância dos fungos como produtores de aborto. Por ser o Brasil um país tropical, há uma maior probabilidade de infecção por fungos do que nos países temperados. O nosso clima é muito favorável ao desenvolvimento de fungos nas folhas de vegetais, nos grãos utilizados na fabricação de ração para animais e no uso de material parcialmente desidratado para forrar as baias que alojam estes animais.

O aborto micótico bovino pode ser provocado por diversos fungos, tais como: *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. terreus*, *Absidia corymbifera*, etc (LACAZ et al., 1991). Segundo JENSEN e LATGE (1995) as espécies de *Aspergillus* spp. apresentam-se como as mais estudadas na patologia animal. Assim eles destacam a importância da aspergilose sistêmica em fêmeas, cujo primeiro sintoma é o aborto. A entrada do fungo na fêmea se dá normalmente por via digestiva. Existe um importante percentual de abortos no gado bovino que atualmente permanece sem diagnóstico, algumas informações indicam que poderiam chegar a 70 %. É coerente suspeitar que alguns destes casos poderiam corresponder a problemas micóticos. A dificuldade de diagnóstico é grande, sobretudo pelo fato de que a coleta de amostras em muitos processos apresenta inconvenientes, impedindo correlacionar a suspeita de aborto pela possibilidade de contaminação do feto posterior ao aborto com fungos do próprio ambiente. Os principais tipos de fungos implicados neste processo em ordem de importância são: *Aspergillus* spp., *Candida* spp. e os Zigomicetos (ESPI, 1998; GARCIA & BLANCO, 2000).

Um grande número de gêneros e espécies de fungos tem sido isolados de casos de aborto. Inegavelmente, o *Aspergillus fumigatus* é o mais importante sendo isolado de cerca de 60 % dos casos de aborto micótico. Outras espécies também isoladas: *A. flavus*, *A. terreus*, *Absidia corymbifera*, *A.lichteimi*, *A. ramosa*, *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *Mucor dispersus*, *M. pusillus*, *M. rhizopodiformis*, *Rhizopus bovinus*, *R. microsporus*, *R. cryzae*, *R. stolonifer*, *Syncephalastrum racemosum*, *Allescheria boydii* e *Scopulariopsis brevicaulis* (CRUZ & ROSA, 1981). Segundo VERMA et al. (1999) o manejo sanitário incorreto, bem como tratamento prolongado e indiscriminado com antibióticos e imunossupressores podem favorecer o desenvolvimento dos fungos oportunistas produzindo sintomas de doenças sérias e aborto.

CLEFF et al. (2003) investigaram a presença de leveduras na mucosa vaginal de fêmeas caninas, relacionando-as com o ciclo reprodutivo. Foram analisadas 292 amostras, das quais 217 foram coletadas de 14 animais alojados em ambiente controlado e 75 amostras coletadas de animais alojados em canis particulares de Pelotas - RS. O material foi coletado com swabs e curetas estéreis. As fases do ciclo estral foram identificadas através da citologia vaginal e de exame físico. As amostras foram submetidas ao exame direto e cultivadas em agar Sabouraud dextrose com cloranfenicol sendo incubadas a 37 °C por até 10 dias. As leveduras isoladas foram *Candida* spp., *Rhodotorula* spp. e *Malassezia pachydermatis* detectadas em todas as fases do ciclo estral, sendo mais frequentes na fase de diestro, que apresentou uma frequência de isolamento de 66,7 % das amostras obtidas da cavidade vaginal das fêmeas dos canis particulares e de 86 % nas fêmeas do canil pesquisa do hospital. De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que *M. pachydermatis*, *Candida* spp. e *Rhodotorula* spp. fazem parte da microbiota vaginal de fêmeas caninas híginas, e que suas frequências alteram-se conforme as fases do ciclo reprodutivo.

CLEFF et al. (2003) em outro estudo desenvolveram um trabalho que teve como objetivo verificar as leveduras do gênero *Candida* spp. de maior ocorrência na cavidade vaginal de fêmeas caninas nas diferentes fases do ciclo estral. Foram obtidas 83 amostras

com crescimento de *Candida* spp. Destas amostras (n=83), nove foram obtidas no pro-estro, 14 no estro, 31 no diestro, 24 no anestro e cinco do período gestacional. A espécie do gênero *Candida* spp. isolada em maior frequência foi *C. parapsilosis* (21,7 %), seguida de *C. guilliermondii* (8,4 %), *C. pseudotropicalis* (6 %), *C. albicans* (4,8 %), *C. glabrata* (3,6 %) e *C. krusei* (3,6 %), sendo isoladas em maior frequência na fase de diestro e em menor frequência no proestro e estro. Das amostras coletadas no período gestacional (n=5), obteve-se isolamento de *C. parapsilosis* em três amostras, nas outras duas isolou-se *C. albicans* e *C. guilliermondii*. De acordo com os resultados obtidos, concluíram que as espécies do gênero *Candida* spp. fazem parte da micobiota vaginal de fêmeas caninas híginas e em maior frequência no diestro, sendo *C. parapsilosis* a espécie mais isolada neste estudo.

A colpocitologia também conhecida como citologia vaginal ou citologia esfoliativa é o estudo das células do aparelho genital a partir da esfoliação do epitélio vaginal, sendo um método prático, seguro e barato para avaliação da saúde reprodutiva de cadelas e gatas, avaliando qualitativamente alterações infecciosas e endócrinas (MELLO, 1997). O estudo da citologia esfoliativa, introduzido por Papanicolaou (1942), possibilitou avaliações celulares, uma vez que o epitélio vaginal sofre modificações em função de variações hormonais cíclicas (SCHUTTE, 1967) durante o ciclo estral, sendo também muito utilizada no intuito de diagnosticar precocemente patologias do trato genital feminino (RAPOSO & SILVA, 1999).

Freqüentemente, permanecem dúvidas aos clínicos da área de reprodução com relação aos resultados obtidos de exames microbiológicos, os quais devem ser interpretados em associação com a observação clínica e com exames citológicos (LANGONI et al., 1994). Em relação à citologia microbiológica, alguns agentes entre fungos e bactérias podem ser identificados direta ou indiretamente, baseados nas alterações causadas nas células epiteliais, pois o exame não permite a classificação da espécie presente, apenas a sua diferenciação de acordo com a morfologia (NETO, 2004).

O exame microbiológico representa um teste indireto para o diagnóstico de doenças infecciosas do aparelho reprodutor. O isolamento de determinado microrganismo não constitui, necessariamente indicativo de infecção e o não isolamento deste não elimina o indicativo de doença. Desta forma o fato de um microrganismo não ter sido isolado no material vaginal não elimina a possibilidade de doenças da reprodução, uma vez que uma série de microrganismos necessita de condições especiais para o seu isolamento (LANGONI et al., 1994).

As técnicas empregadas e a interpretação dos resultados são importantes (BAKER & KENNEY, 1980) para avaliar se os microrganismos isolados podem ser incriminados como agentes de doenças da reprodução, causadores de vaginites, piometrites e endometrites ou contaminantes não patogênicos.

Analisando casos de endometrite causadas por *Candida* spp. em éguas, PUGH et al. (1986) demonstraram que a citologia vaginal é um exame tão preciso quanto a avaliação microbiológica. LANGONI et al. (1994) observaram em fêmeas eqüinas concordância entre os achados bacteriológicos e citológicos, havendo desta forma uma associação significativamente forte entre os dois tipos de exames. Os autores também concluíram que o resultado dos exames citológicos é decisivo para o diagnóstico das endometrites, devendo ser levado em consideração para se evitar resultados falso-positivos que acabarão por induzir a tratamentos desnecessários, colocando em risco, inclusive, a integridade da mucosa do trato reprodutivo e significando gastos com medicamentos e mão de obra.

Há vários métodos de coloração já descritos, como o método Shorr (LUCA, 1981; TONIOLO et al., 1995), o corante de Papanicolaou (MILLS et al., 1979; LUCA, 1981), o corante de Wright (MILLS et al., 1979; OLSON et al., 1984) e a coloração diferencial rápida ou coloração de panótico (Diff Quick®), este último de fácil execução, representando um caminho alternativo para a citologia vaginal (NEVES, 2001).

ANDRADE (2006) trabalhando com gatas verificou num total de 107 isolados, que os fungos filamentosos apresentaram o maior número de isolados com 68 (63,55 %) e as leveduras com 39 (36,44 %). Com relação aos fungos isolados em dois grupos distintos, houve diferença na frequência entre as espécies. No Grupo 1 (gatas inteiras), verificou-se alta frequência de *Candida* spp. (30,5 %), *Aspergillus* spp. (18,64 %) e *Curvularia* spp. (11,86 %). No grupo 2 (gatas castradas), observou-se maior incidência de *Penicillium* spp. (25,0 %), *Cladosporium* spp. com 18,75 % e *Candida* spp. com 16,66 %. Em relação ao isolamento bacteriano, no Grupo 1 verificou-se uma maior frequência de *Edwardsiella tarda* (19,04 %), seguido de *Enterobacter* spp. e *Streptococcus* spp. na mesma proporção (16,19 %). Quanto ao Grupo 2, foi possível verificar uma maior frequência de *Enterobacter* spp. (16,88 %), seguido de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* em igual proporção com 15,88 %.

Quanto à associação da citologia vaginal com o isolamento de fungos filamentosos, verificou-se que 88,0 % das lâminas não apresentaram indícios fúngicos, enquanto que na análise microbiológica 63,55 % dos isolados eram positivos para fungos. Com base nestes dados verificou-se que a citologia não é um exame preciso no diagnóstico preventivo de enfermidades fúngicas do aparelho reprodutivo. Analisando o isolamento bacteriano das amostras vaginais com as lâminas do esfregaço, foi verificada a presença de bactérias em todas as lâminas da citologia (100 %), este resultado tem grande associação ao isolamento bacteriano que também obteve crescimento positivo em todas as amostras analisadas. Desta forma é possível constatar que a citologia vaginal é um exame tão preciso quanto a microbiologia em relação às bactérias.

Segundo SANTOS (2006) trabalhando com 40 cadelas, observou que a bactéria isolada com maior frequência da vagina de cadelas foi *Micrococcus* spp. (24,6 %), seguido de *Streptococcus* spp. (13,24 %) e *Streptococcus schleiferi coagulans* e *Escherichia coli* (9,56 %). O fungo mais isolado foi *Cladosporium* spp. (20 %), seguido do *Fusarium* spp. (16,3 %) e *Curvularia* spp. e *Aspergillus* spp. (10,9 %). A citologia vaginal foi um indicativo de qualidade no que diz respeito à identificação da fase do ciclo estral, da presença e quantificação de bactérias e de neutrófilos, mas não foi um indicativo de qualidade no que diz respeito a fungos filamentosos, quando comparado ao isolamento microbiológico.

ABABNEH e DEGEFA (2006) trabalharam com 26 cabras pluríparas e primíparas e investigaram a microbiota bacteriana do trato genital durante o período pós parto. Foram isolados *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Arcanobacterium pyogenes*. Observaram que o útero e a cérvis encontravam-se livres de contaminação bacteriana a partir do décimo dia pós-parto, o que não foi constatado em relação à vagina.. Concluíram que infecções intra-uterinas não são comuns em cabras e que, *Escherichia coli* é a bactéria mais comumente isolada no útero de cabras.

3. MATERIAL E MÉTODOS

As análises micológicas foram realizadas no laboratório do Núcleo de Pesquisas Micológicas e Micotoxicológicas (NPMM) do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária do IV, a coloração e análise colpocitológica das lâminas foram realizados no Laboratório de Fisiopatologia da Reprodução, do Projeto Sanidade Animal, convênio Embrapa/UFRRJ.

Os procedimentos das análises bacteriológicas e a identificação das leveduras foram realizados, respectivamente, nos Laboratórios de Bacteriologia e de Leveduras Patogênicas e Ambientais, ambos do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária do IV/UFRRJ.

3.1 Amostragem

Foram escolhidos três criatórios de caprinos da raça Saanen no Sul do Estado do Rio de Janeiro em três cidades distintas. O primeiro criatório foi do Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CTUR) no Município de Seropédica-RJ, o segundo na Fazenda Terra Verde no distrito de Ponte Coberta, Município de Paracambi-RJ e o terceiro no Sítio Boa Esperança no Município de Mendes-RJ. Os três criatórios adotam o sistema de criação semi-intensivo, ou seja, parte do dia sob pastejo e parte estabulado em capris de ripado suspenso.

As amostras foram coletadas de dois reprodutores e de vinte e sete fêmeas nos seguintes períodos: fase do proestro (antes do cio) em 15 e 16 de fevereiro de 2005, no período pós-cópula, em 8 e 9 de maio de 2005 e depois do parto em 19 e 20 de outubro de 2005 (n=85).

3.2 Coleta de material (Anexo 01)

Iniciados os procedimentos de coleta o auxiliar abriu um par de luvas estéril que foi calçado pelo operador obedecendo a normas de conduta cirúrgica com o objetivo de reduzir a possibilidade de contaminação externa. Em seguida abriu asépticamente a escova ginecológica, o swab, a seringa e a sonda uretral estéreis e seqüencialmente as apresentou ao operador já com as mãos enluvadas.

3.2.1 Coleta com escova ginecológica

Após a contenção devida do animal em estação, o auxiliar abriu os lábios vulvares e o operador com as mãos enluvadas introduziu a escova ginecológica estéril na cavidade vaginal da cabra e rotacionou, promovendo a escarificação do epitélio. Em seguida esta escova foi pressionada em rotação sobre uma lâmina de microscopia promovendo o esfregaço que foi em seguida fixado por imersão em álcool etílico absoluto, e enviadas ao laboratório para processamento apropriado.

3.2.2 Coleta com swab

Foram utilizados swabs estéreis com hastes flexíveis e de ponta de algodão hidrofílico segundo BJURSTRÖM (1993), WATTS et al. (1996) e OLIVEIRA et al. (1998).

Em seguida, com o animal ainda contido, e os lábios vulvares abertos pelo auxiliar para que o swab não toque a parte externa, o operador o introduziu a uma profundidade de aproximadamente 4,0 cm, e rotacionou. Ao retirá-lo colocou imediatamente em tubos com meio de transporte refrigerado a 15 °C. Foram conduzidos até o Laboratório de Bacteriologia onde foram utilizados no isolamento bacteriano (BJURSTRÖM, 1993).

3.2.3 Coleta por lavado vaginal

Por fim, introduziu-se sonda uretral número 8 estéril acoplada a uma seringa contendo 10,0 mL de salina estéril. A sonda foi introduzida aproximadamente 4,0 cm com o cuidado de não cateterizar a uretra, mas mantê-la na cavidade vaginal. Instilou-se a salina e em seguida aspirou-se todo o volume injetado. A sonda foi desprezada e a amostra colocada em tubo estéril, refrigerada e posteriormente conduzida ao laboratório de micologia.

3.2.4 Coleta no macho

Nos reprodutores realizamos coleta apenas através de swab e lavado prepucial, nesta ordem, obedecendo à técnica descrita para as fêmeas e tomando-se todos os cuidados relativos à assepsia.

3.3 Processamento das amostras

3.3.1 Análise Bacteriológica

A inoculação foi realizada através de swab, simultaneamente, em quatro meios de cultivo distintos: Ágar MacConkey, Ágar seletivo para Estreptococos, Ágar Sangue e Ágar Manitol Vermelho de Fenol em duplicata (ALLEN & DAGNALL, 1982; LING & RUBY, 1978; BABA et al., 1983). As placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 a 48 h.

Após a identificação presuntiva das colônias, estas foram submetidas ao método de Gram, para confirmação das suas características morfotintoriais, e as provas da catalase e prova do hidróxido de potássio. De acordo com as características apresentadas, os isolados foram submetidos aos procedimentos de identificação pertinentes a cada grupo (KONEMAN et al., 2001).

3.3.1.1 Etapa de Identificação

Após a identificação presuntiva das colônias, estas foram submetidas ao método de Gram, para confirmação das suas características morfotintoriais, e as provas da catalase e prova do hidróxido de potássio. De acordo com as características apresentadas, os isolados foram submetidos aos procedimentos de identificação pertinentes a cada grupo.

Os cocos Gram positivos foram submetidos à prova da coagulase livre. Uma vez coagulase positivos, os *Staphylococcus* spp. tiveram sua identificação comprovada através

dos testes Voges-Proskauer, fermentação de maltose e redução de nitratos. As amostras coagulase-negativas foram submetidas ao teste de sensibilidade a bacitracina (10 UI), para a diferenciação entre estafilococos coagulase-negativo e o gênero *Micrococcus* spp. A identificação dos isolados de *Streptococcus* spp. foi efetuada através do repique em meio seletivo para *Streptococcus* spp. (Caldo Azida), e das provas de hidrólise de esculina e hipurato, teste Voges Proskauer (VP), comportamento em Agar SIM e fermentação de açúcares. Para os isolados de bastões gram positivos, se associava as características morfotintoriais com o teste da catalase, além de avaliar a presença de esporos, teste da redução de nitrato, fermentação de açúcares, hidrólise de esculina e produção de Indol. As amostras suspeitas de enterobactérias foram identificadas a partir das provas: comportamento em ágar tríplice açúcar-ferro, motilidade em tubo, produção do indol, redução do nitrato, produção de gelatinase, degradação do citrato e do malonato, prova de Voges-Proskauer e outros diferenciais de acordo com o microrganismo envolvido (KONEMAN, 2001).

3.3.2 Análise Micológica

Com a amostra coletada por lavado vaginal, procedemos à inoculação de 100 µL em meio de Sabouraud 2 % SAD e Ágar Sangue com Cloranfenicol (0,5 g.L⁻¹) em duplicata, sem diluição. A alíquota foi distribuída com uniformidade, utilizando-se a alça de Drigalsky e as placas incubadas a 25 °C por 7 dias. Posteriormente foi feita a identificação microscópica inicial com azul de algodão, para o reconhecimento de fungos filamentosos, leveduras e bactérias. Foram descartadas as bactérias. Os fungos filamentosos e leveduras foram armazenados em SAD. A identificação foi baseada no estudo morfológico (macroscópico e microscópico) em meios SAD e Agar Batata Dextrose, e quando necessário, testes bioquímicos (ANEXO 2). Para o estudo macroscópico, foi observada a superfície e o reverso da colônia, quanto ao diâmetro, cor dos esporos e micélio, textura, presença de exudatos e pigmentos solúveis. As estruturas microscópicas (conidióforos, células conidiogênicas e conídios) foram comparadas às apresentadas por critérios adotados por literaturas específicas (ELLIS, 1971; ELLIS, 1976; DOMSCH et al., 1980; HOOG et al., 1995; DAVID, 1997; BARNETT et al., 1999; PITT, 2000; KLICH, 2002).

Os isolados de leveduras foram caracterizados com a utilização de métodos tradicionais de assimilação e fermentação de açúcares e estudos fisiológicos complementares, de acordo com as chaves de identificação propostas por KURTZMAN e FELL (1998) e seguindo-se o protocolo (Anexo 02) de identificação de leveduras elaborado com base nas mesmas informações.

3.3.3 Análise citológica vaginal

Os esfregaços devidamente fixados em álcool etílico absoluto foram corados pelo método Panótico Rápido com corante Diff Quick® e analisados ao microscópio óptico.

3.3.3.1 Microrganismos

Os microrganismos foram identificados como bactérias (cocos, bacilos), leveduras e fungos. O critério para a avaliação foi feito segundo ALLEN (1985), que quantificou as estruturas observadas em raras (+), freqüentes (++) , abundantes (+++) , e incontáveis (++++).

Em nosso trabalho usamos a legenda a seguir, baseada na classificação de ALLEN (1985), o qual sofreu algumas alterações quanto a sua quantificação: ausentes, raras (+1), freqüentes (+2), abundantes (+3) (SANTOS, 2006; ANDRADE, 2006).

4. RESULTADOS

Na análise micológica, o macho número 13 que cobriu as fêmeas de um a 12, e o macho 25 que cobriu as fêmeas de 14 a 24 não apresentaram fungos filamentosos na primeira coleta. Dos 29 animais que tiveram sua microbiota genital pesquisada, isolamos fungos filamentosos de seis no proestro, 11 após a cópula e de 21 após o parto, sendo as leveduras isoladas somente nesta coleta em apenas dois dos animais (Tabela 01).

Na primeira coleta, foram isolados dois gêneros e três espécies de fungos. A espécie mais freqüente foi *Aspergillus flavus*, presente em 13,79 % dos animais, seguido do *Cladosporium cladosporioides* e *C. oxysporum* cada um encontrado em 3,44 % dos animais, sendo os únicos gêneros isolados. Após a cópula foram isolados oito gêneros e 10 espécies. *C. cladosporioides* foi a espécie de maior freqüência, tendo sido encontrada em 13,79 % dos animais, seguido do *Aspergillus flavus* com 10,34 %. E após o parto foram isolados oito gêneros e 17 espécies. A espécie *C. oxysporum* foi encontrada em 31,03 % dos animais, seguida de *C. cladosporioides* com 10,34 % (Tabela 02).

Considerando-se todas as amostras coletadas, as espécies encontradas em maior freqüência foram: *Cladosporium oxysporum* em 12,64 %, *C. cladosporioides* em 9,19 %, e *Aspergillus flavus* em 8,04 % (Figura 01).

O gênero de bactéria isolado em maior freqüência na fase do proestro foi *Micrococcus* spp. em 93,1 % dos animais, seguido de *Escherichia coli* com 44,8 % e *Streptococcus* spp. com 10,3 %. Após a cópula foram isolados *Micrococcus* spp. em 89,65 % dos animais, seguido de *Bacillus* spp. com 44,8 % e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo com 37,9 %. Após o parto foram isolados *Micrococcus* spp. em 86,2 % dos animais, seguido de *Bacillus* spp. com 41,3 %, *Staphylococcus aureus aureus* e *Enterobacter agglomerans* ambos com 31 % (Tabela 03).

Do total de amostras coletadas nas três diferentes fases do ciclo estral, *Micrococcus* spp. mostrou ser o gênero mais prevalente com 89,65 %, seguido de *Bacillus* spp. com 29,9 % e *Escherichia coli* com 23 % (Figura 02).

No macho número 13 houve o crescimento de *Escherichia coli*, *Listeria* spp., *Micrococcus* spp., *Staphylococcus aureus aureus*, *Hafna alveo* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, na primeira coleta. Nas fêmeas que foram copuladas por este animal (números de um a 12) foi possível isolar *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, *Escherichia coli*, *Bacillus* spp., *Staphylococcus aureus aureus*, *Enterobacter* spp. No segundo macho avaliado (número 25) foi isolado apenas *Micrococcus* spp. no proestro e, nas fêmeas que ele copulou (números de 14 a 24) foi possível isolar *Micrococcus* spp., *Listeria* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus intermedius*, *Enterobacter agglomerans*, *Bacillus* spp. e *Escherichia coli* (Tabela 04).

Tabela 01 As espécies de fungos isolados nas três diferentes coletas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal.

Animal	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta
1	nd	<i>Verticillium</i> sp.	<i>Cladosporium oxysporum</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Pestalotia</i> sp.
2	nd	<i>Acremonium</i> sp. <i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Penicillium arenicola</i>
3	nd	nd	<i>Cladosporium oxysporum</i>
4	nd	<i>Aspergillus alabamenses</i> <i>Ulocladium chlamydosporum</i>	<i>Penicillium citrionigrum</i> <i>Penicillium rugulosum</i>
5	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Cladosporium oxysporum</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
6	nd	nd	<i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Rhodotorula</i> sp.
7	nd	nd	nd
8	nd	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Geotricum</i> sp.
9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	nd	nd
10	nd	nd	<i>Cladosporium oxysporum</i>
11	nd	nd	<i>Cladosporium elantum</i>
12	<i>Cladosporium oxysporum</i>	<i>Nigrospora sphaerica</i> <i>Monilia</i> sp.	<i>Cladosporium oxysporum</i>
13*	nd	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>C. cladosporioides</i> , <i>Phoma</i> sp.
14	nd	nd	<i>Cladosporium oxysporum</i> <i>Tricophyton mentagrophytes</i>
15	nd	nd	<i>Acremonium</i> sp. <i>Cladosporium elantum</i> <i>C. cladosporioides</i> <i>C. sphaerospermum</i>
16	nd	<i>Curvularia senegalensis</i>	nd
17	nd	nd	nd
18	nd	nd	<i>Cladosporium oxysporum</i>
19	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus reptans</i>
20	nd	nd	nd
21	nd	nd	<i>Cladosporium oxysporum</i> <i>Phoma</i> sp., <i>Aspergillus reptans</i>
22	nd	nd	nd
23	nd	nd	<i>C. sphaerospermum</i>
24	nd	nd	<i>Cladosporium oxysporum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>
25*	nd	nd	nd
26	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	nd
27	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Phoma</i> sp.
28	nd	nd	<i>Cladosporium oxysporum</i>
29	nd	nd	<i>Penicillium griseofulvum</i>

nd - não detectado

* - machos

Tabela 02 Frequência de isolamento fúngico nas três diferentes coletas realizadas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal.

Fungos isolados	1 ^a coleta		2 ^a coleta		3 ^a coleta		FA	
	NI	F %	NI	F %	NI	F %	NI	F %
<i>Aspergillus flavus</i>	4	13,79	3	10,34	0	-	7	8,04
<i>Cladosporium oxysporum</i>	1	3,44	1	3,44	9	31,03	11	12,64
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	3,44	4	13,79	3	10,34	8	9,19
<i>Verticillium</i> sp.	0	-	1	3,44	0	-	1	1,14
<i>Acremonium</i> sp.	0	-	1	3,44	1	3,44	2	2,28
<i>Aspergillus alabamenses</i>	0	-	1	3,44	0	-	1	1,14
<i>Ulocladium clamydosporum</i>	0	-	1	3,44	0	-	1	1,14
<i>Nigrospora sphaerica</i>	0	-	1	3,44	0	-	1	1,14
<i>Monilia</i> sp.	0	-	1	3,44	0	-	1	1,14
<i>Curvularia senegalensis</i>	0	-	1	3,44	0	-	1	1,14
<i>Penicillium commune</i>	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14
<i>Pestalotia</i> sp.	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14
<i>Penicillium arenicola</i>	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14
<i>Penicillium citronigrum</i>	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14
<i>Penicillium rugulosum</i>	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14
<i>Cladosporium elantum</i>	0	-	0	-	2	6,88	2	2,28
<i>Phoma</i> sp.	0	-	0	-	2	6,88	2	2,28
<i>Tricophyton mentagrophytes</i>	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	0	-	0	-	2	6,88	2	2,28
<i>Aspergillus reptans</i>	0	-	0	-	2	6,88	2	2,28
<i>Rhodotorula</i> sp.	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14
<i>Geotricum</i> sp.	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14

NI – número de isolados

FA – frequência absoluta

Figura 01 Gráfico da frequência absoluta dos fungos isolados nas três coletas.

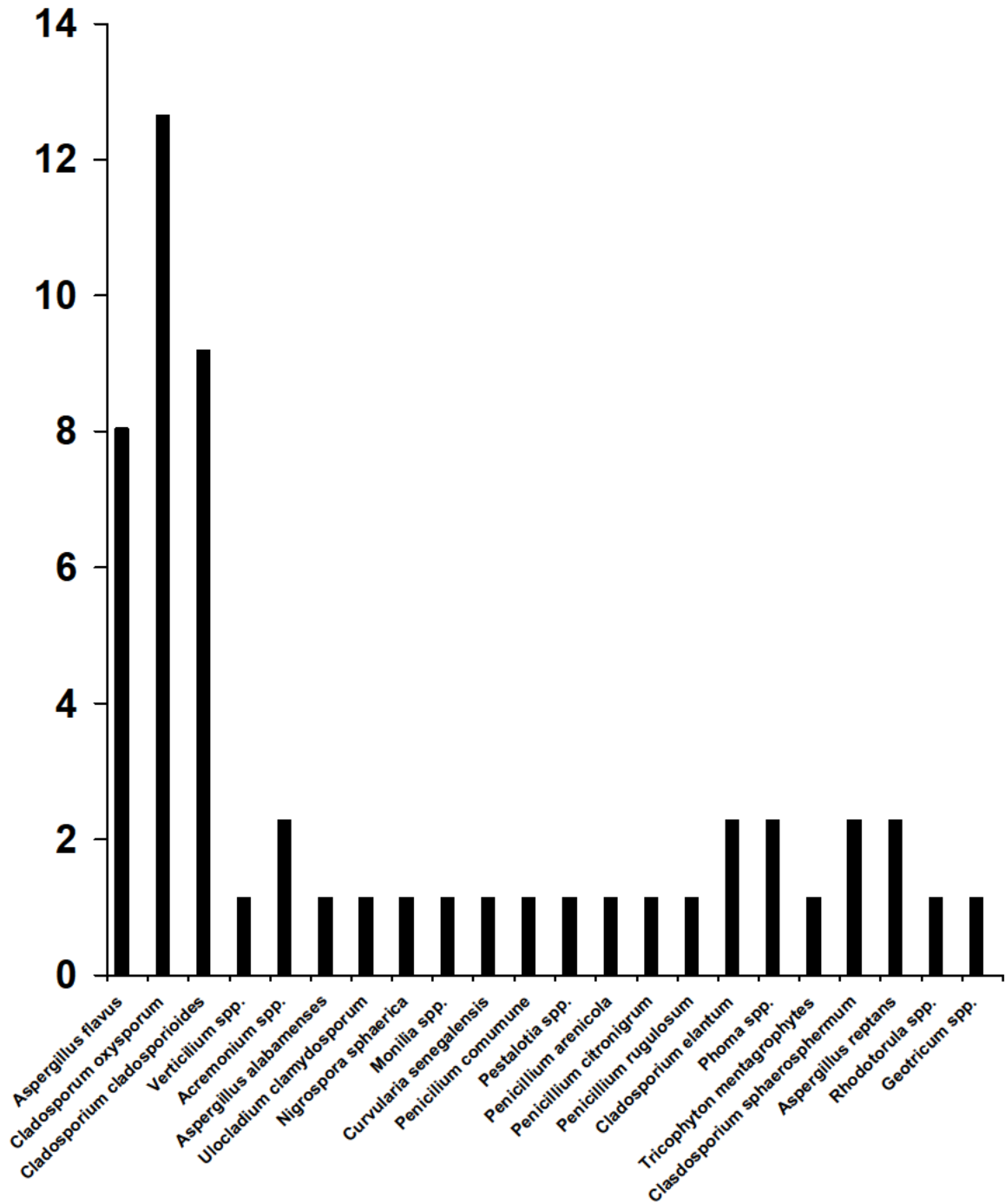


Tabela 03 Frequência de isolamento bacteriano nas três diferentes coletas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal.

Bactérias isoladas	1 ^a coleta		2 ^a coleta		3 ^a coleta		FA	
	NI	F%	NI	F%	NI	F%	NI	F%
<i>Micrococcus</i> spp.	27	93,10	26	89,65	25	86,20	78	89,65
<i>Enterobacter</i> spp.	0	-	4	13,80	0	-	4	4,59
<i>Bacillus</i> spp.	1	3,44	13	44,80	12	41,30	26	29,90
<i>Escherichia coli</i>	13	44,8	7	24,10	0	-	20	23,00
<i>Streptococcus</i> spp.	3	10,3	10	34,40	0	-	13	14,95
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase -	1	3,44	11	37,90	0	-	12	13,79
<i>Corynebacterium</i> spp.	1	3,44	6	20,70	0	-	7	8,04
<i>Listeria</i> spp.	2	6,88	8	27,60	0	-	10	11,49
<i>Hafna álveo</i>	2	6,88	0	-	0	-	2	2,30
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	-	0	-	9	31,00	9	10,34
<i>Lactobacillus</i> spp.	0	-	2	6,88	0	-	2	2,30
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0	-	2	6,88	0	-	2	2,30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	-	0	-	1	3,44	1	1,14
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	1	3,44	1	3,44	0	-	2	2,30
<i>Staphylococcus aureus aureus</i>	2	6,88	0	-	9	31,00	11	12,64

NI – número de isolados

FA – frequência absoluta

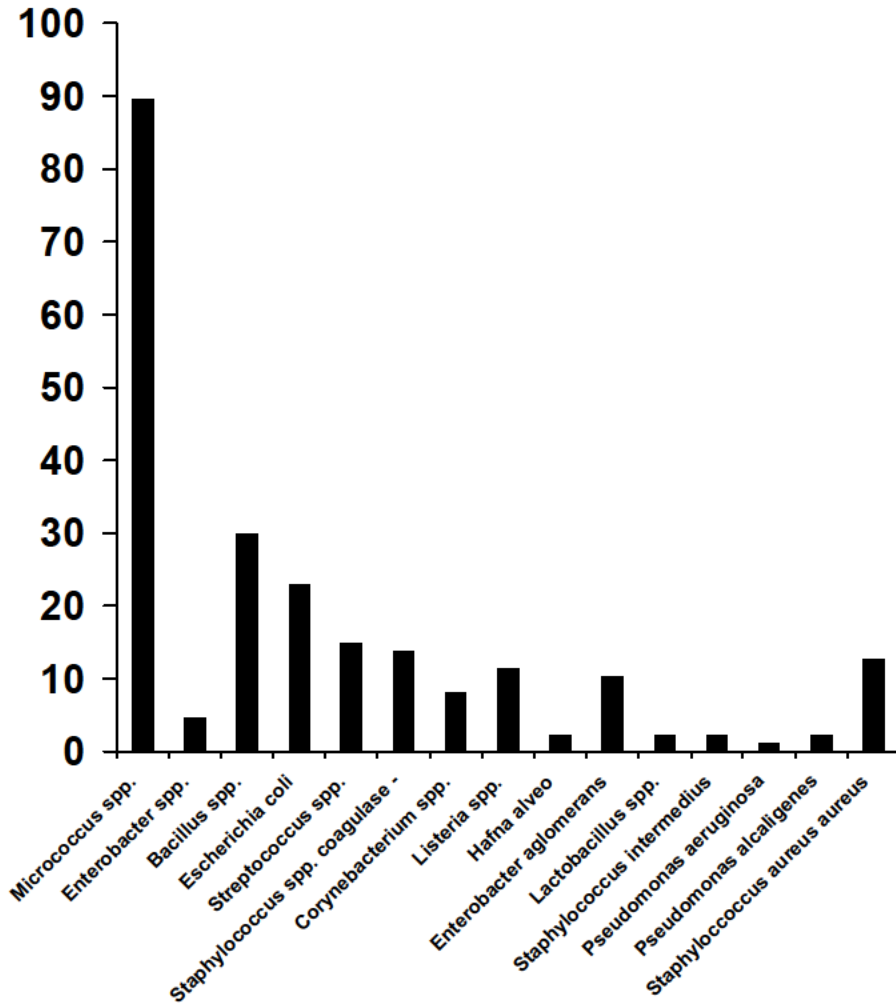
Tabela 04 As espécies de bactérias isoladas nas três diferentes coletas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal.

A	1 ^a coleta	2 ^a coleta	3 ^a coleta
1	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , Estafilococos coag -	<i>Staphylococcus aureus aureus</i> , <i>Bacillus</i> spp.
2	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus</i> spp., <i>Staphylococcus aureus aureus</i>	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., Estafilococos coag -	nd
3	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., Estafilococos coag -	<i>Bacillus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp.
4	nd	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., Estafilococos coag -	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Staphylococcus aureus aureus</i>
5	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus</i> spp., Estafilococos coag -	<i>Bacillus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp.
6	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.
7	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus</i> spp., Estafilococos coag - <i>Bacillus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.
8	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp.
9	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp., Estafilococos coag -, <i>Micrococcus</i> spp. .	<i>Bacillus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp.
10	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Listeria</i> spp.	Estafilococos coag -, <i>Micrococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Staphylococcus aureus aureus</i> <i>Bacillus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp.,
11	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus</i> spp., Estafilococos coag - <i>Enterobacter</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus aureus</i>
12	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus</i> spp., Estafilococos coag - <i>Enterobacter</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.
13*	<i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus</i> spp., <i>Listeria</i> spp., Estafilococos coag -, <i>Staphylococcus aureus aureus</i> , <i>Hafna álveo</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., Estafilococos coag -	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.

Tabela 04 As espécies de bactérias isoladas nas três diferentes coletas de acordo com as fases do ciclo estral de cabras submetidas às análises microbiológica e citológica vaginal (continuação) .

A	1 ^a coleta	2 ^a coleta	3 ^a coleta
14	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Hafna álveo</i> , Estafilococos coag -	<i>Listeria</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Staphylococcus aureus aureus</i>
15	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp., <i>Listeria</i> spp.	<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
16	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i> <i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i> ,	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Listeria</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.,	<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
17	<i>Pseudomonas alcalinigenes</i>	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.
18	<i>Micrococcus</i> spp. <i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus</i> spp. <i>Listeria</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Micrococcus</i> spp.
19	<i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Staphylococcus aureus aureus</i> , <i>Bacillus</i> spp.
20	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> <i>intermedius</i>	<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Micrococcus</i> spp.
21	<i>Micrococcus</i> spp.		<i>Micrococcus</i> spp., <i>Staphylococcus aureus aureus</i>
22	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Listeria</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.
23	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp	<i>Listeria</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Staphylococcus aureus aureus</i>
24	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.
25*	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Pseudomonas alcalinigenes</i>	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i>
26	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Listeria</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.
27	<i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Bacillus</i> spp.
28	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> <i>aureus</i>
29	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Listeria</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.

Figura 02 Gráfico da frequência absoluta das bactérias isoladas nas três coletas.



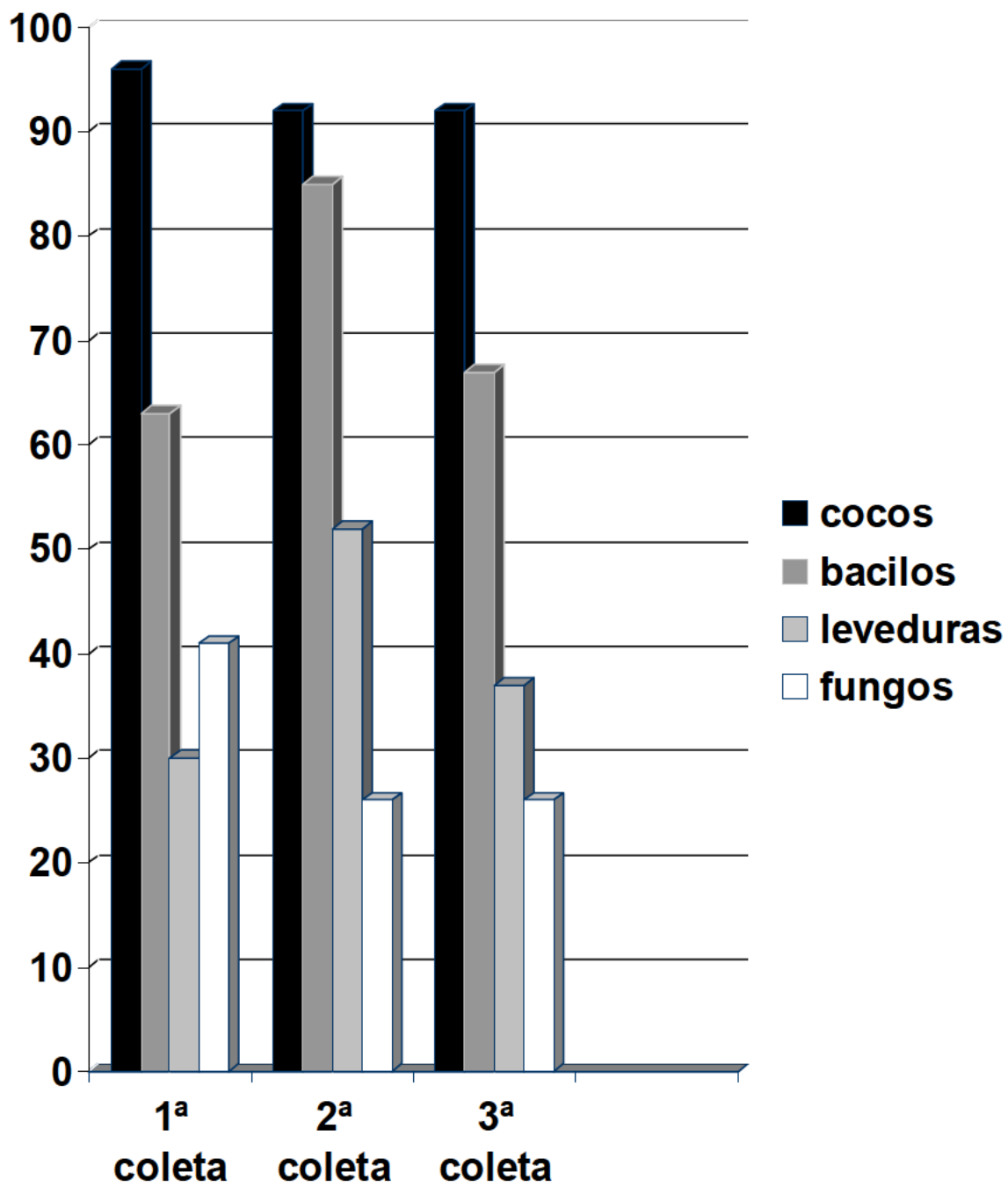
De 162 investigações em lâminas preparadas para o estudo citológico, realizadas para bactérias, em 123 (76 %) houve concordância entre os achados microscópicos e o isolamento bacteriano. Em 39 (24 %) não houve concordância. Destes 39 casos, em 25 (64 %) foi observada a presença de bactérias e sua morfologia nas lâminas, mas estas não foram isoladas. Em sete dos 39 casos (18 %) foram isoladas bactérias que não foram visualizadas no estudo colpocitológico. Em 24 de 27 (89 %) animais avaliados foi observada a presença de leveduras nas lâminas, mas só houve isolamento em dois (7,4 %) animais. Em 81 investigações da presença de hifas, no estudo citológico, em 43 (53 %) houve concordância entre a observação de hifas e o isolamento de fungos filamentosos e em 38 (47 %) não houve (Tabela 05 e Figura 03).

Tabela 05 Microrganismos e estruturas observadas no estudo colpocitológico.

N	primeira coleta				segunda coleta				terceira coleta			
	Bactérias		fungos		bactérias		fungos		bactérias		Fungos	
	C	B	H	L	C	B	H	L	C	B	H	L
1	3+	1+	0	0	3+	2+	1+	0	3+	1+	0	0
2	3+	1+	1+	0	3+	1+	0	0	-	-	-	-
3	3+	R	0	0	3+	2+	0	2+	3+	1+	0	2+
4	3+	1+	0	1+	3+	3+	R	2	3+	2+	0	2+
5	2+	0	0	1+	3+	1+	0	1+	3+	0	0	2+
6	2+	0	0	0	3+	1+	0	2+	3+	0	0	0
7	2+	0	0	0	3+	2+	0	1+	3+	2+	0	2+
8	3+	R	0	1+	-	-	-	-	3+	1+	1+	1+
9	3+	1+	0	0	3+	1+	1+	2+	-	-	-	-
10	3+	2+	1+	0	3+	0	0	2+	3+	1+	0	0
11	3+	1+	0	1+	3+	0	0	0	3+	0	2+	1+
12	3+	0	0	0	3+	1+	0	1+	3+	0	0	0
14	3+	1+	0	0	3+	2+	0	2+	3+	0	0	0
15	3+	1+	0	1+	3+	1+	0	0	3+	1+	0	0
16	3+	1+	1+	2+	3+	2+	0	0	3+	2+	0	0
17	2+	R	0	0	0	R	0	0	1+	2+	2+	3+
18	3+	1+	1+	1+	3+	2+	1+	0	3+	3+	1+	0
19	3+	2+	R	0	3+	2+	0	0	3+	0	1+	0
20	2+	0	1+	0	2+	2+	0	0	3+	2+	0	2+
21	3+	2+	1+	2+	3+	2+	2+	2+	2+	1+	0	0
22	3+	1+	0	2+	3+	2+	0	0	3+	2+	0	0
23	-	-	-	-	3+	3+	0	0	3+	3+	2+	1+
24	1+	0	1+	0	3+	3+	1+	2+	2+	1+	2+	1+
26	2+	2+	2+	1+	2+	2+	0	0	2+	2+	0	0
27	1+	2+	0	0	2+	1+	1+	2+	3+	1+	0	0
28	3+	1+	0	0	1+	0	0	2+	2+	1+	0	0
29	2+	1+	0	2+	3+	2+	0	1+	2+	0	0	0

C-cocos, R-raros, H-hifas, B-bastonetes, L-leveduras, 0-não foram encontrados

Figura 03 Gráfico da frequência absoluta dos microrganismos isolados nas três diferentes coletas.



5. DISCUSSÃO

Durante o presente trabalho foi encontrada uma grande diversidade de espécies de bactérias e fungos. Desde bactérias normalmente encontradas nas fezes a fungos normalmente encontrados no ambiente. O que entra em concordância com os trabalhos de RAMASWAMY et al. (1991), SHARDA et al. (1991), BALASSU et al. (1992), CAMPERO et al. (1992), KUNZ et al. (2002), ao afirmarem que em condições normais a microbiota vaginal apresentou composição e número variável e os microrganismos encontrados neste ambiente também puderam estar presentes na pele, fezes e cavidade oral. Segundo estes mesmos autores, frequentemente isolaram-se *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp. da mucosa vaginal, o que corrobora com os resultados encontrados.

O gênero *Cladosporium* spp. foi o fungo filamentoso mais isolado, sendo encontrado em 26,39 % das amostras analisadas, apesar de não ter sido citado na literatura consultada como pertencente a microbiota vaginal de cabras na literatura consultada (Figura 01).

Na literatura não há relatos de estudos da microbiota prepucial de caprinos. No presente experimento os reprodutores 13 e 25 não tiveram isolados para fungos, o que diminuiu sua importância como inoculadores de fungos filamentosos, mas não descartou a sua importância como disseminador destes microrganismos entre as fêmeas. O prepúcio pode não oferecer condições ideais de crescimento para estes microrganismos, mas a cópula pareceu ser um importante fator de disseminação ou intercâmbio de microrganismos entre as fêmeas. Em relação às bactérias, pôde-se afirmar que o macho teve importância maior como carreador de bactérias de uma fêmea para outra do que propriamente inoculando bactérias próprias de seu trato genital. Fato este que pôde ser confirmado através da análise do macho número 25, no qual foi possível isolar apenas *Micrococcus* spp. na primeira coleta (proestro das fêmeas), observando-se um aumento no número de isolamentos, aumento no número das espécies isoladas e um possível intercâmbio de bactérias entre as fêmeas copuladas por este macho.

A fase do ciclo onde houve maior percentual de espécies bacterianas isoladas foi após a cópula, seguida de uma diminuição de quase 60 % após o parto, entretanto para fungos, a fase do ciclo onde houve maior percentual de espécies isoladas foi após o parto, cerca de 50 % a mais que no período pós-cópula.

Foram isolados vários agentes microbianos potencialmente patogênicos como *Aspergillus flavus*, *Escherichia coli*, *Listeria* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*. Entretanto não foram observados problemas em relação a prenhez ou parto em nenhuma das cabras, o que concorda com BABA (1994) o qual cita que o isolamento de um patógeno oportunista não é prova de infecção.

A espécie *Aspergillus flavus* foi isolada de 13,79 % dos animais, sem produzir nenhum distúrbio reprodutivo, sugerindo que sua patogenicidade esteja condicionada a uma eventual queda de resistência do hospedeiro, possivelmente provocada pelo uso indiscriminado de antibióticos que desequilibram a microbiota, ou ainda pelo uso prolongado de corticoesteróides que leva a imunossupressão. Segundo AINSWORTH e AUSTWICK (1973); LACAZ et al., (1991); CRUZ e ROSA (1981); JENSEN e LATGE (1995) essa espécie é uma das mais estudadas e pode provocar aborto, sobretudo no gado bovino.

A bactéria isolada com maior frequência da vagina de cabras foi *Micrococcus* spp. (89,65 %), seguido de *Bacillus* spp. (29,9 %) e *Escherichia coli* (23 %) (Figura 02).

A predominância de *Micrococcus* spp. deve-se possivelmente ao fato de estes microrganismos serem componentes da microbiota vaginal de cabras híidas, uma vez que são comumente encontradas em outros ruminantes (GUIDO et al., 2004). Com exceção de *Pseudomonas alcaligenes* e *Hafna alveo*, todos os agentes encontrados no presente trabalho já foram descritos como pertencentes à microbiota de fêmeas bovinas (ROCHA et al., 2004). Os resultados são relevantes também frente à importância de *S. aureus aureus*, *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp., como agentes etiológicos de infecções oportunistas.

Analisando cabras no pós-parto, ABABNEH e DEGEFA (2006) investigaram a microbiota bacteriana do trato genital durante o período pós-parto. Foram isolados *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Arcanobacterium pyogenes*. Observaram que o útero e a cérvix encontravam-se livres de contaminação bacteriana a partir do décimo dia pós-parto - o que não foi constatado em relação à vagina. Concluíram que infecções intra uterinas não são comuns em cabras e que, *Escherichia coli* é a bactéria mais comumente isolada no útero de cabras.

Entretanto, em nosso trabalho, também isolamos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* , mas não *Arcanobacterium pyogenes*.

Quanto à associação da citologia vaginal com o isolamento de fungos filamentosos, verificou-se que 28,4 % das lâminas apresentaram estruturas fúngicas, enquanto que na análise microbiológica 44,82 % das amostras eram positivas para fungos. Com base nestes dados verificou-se que a citologia não é um exame preciso no diagnóstico preventivo de enfermidades fúngicas do aparelho reprodutivo, sugerindo que se empregue uma metodologia de coloração, que melhor evidencie a presença de fungos na análise citológica (Figura 03).

Associando-se o isolamento bacteriano das amostras vaginais com as lâminas do estudo colpocitológico, foi verificada a presença de bactérias em todas as lâminas da citologia (100 %). Este resultado tem grande associação ao isolamento bacteriano que também obteve crescimento positivo em todas as amostras analisadas. Desta forma é possível constatar que a citologia vaginal é um exame preciso em relação à presença de bactérias.

Apesar de ter sido observada a presença de leveduras em 89 % das lâminas no estudo colpocitológico, estes microrganismos só foram isolados de 7,4 % dos animais. É necessário diversificar a metodologia em meios de culturas mais apropriados ou inibitórios para fungos filamentosos, pois deve ser considerada a hipótese de ter havido inibição competitiva por fungos filamentosos no isolamento. A temperatura de incubação também pode ser variada na tentativa de melhor isolar leveduras. CLEFF et al. (2003) isolaram leveduras do trato genital de cadelas, incubando as placas a 37 °C. SANTOS (2006) isolou diversas leveduras da vagina de cadelas utilizando meio de Sabouraud 2 % com cloranfenicol, Ágar Sangue com cloranfenicol e incubando a 25 °C. ANDRADE (2006) conseguiu isolar leveduras da vagina de gatas domésticas utilizando os mesmos métodos descritos por SANTOS (2006).

6. CONCLUSÕES

*Os resultados obtidos no presente trabalho evidenciam a diversidade da microbiota vaginal e prepuccial de caprinos e apontam para o fato de que podem ser carregados durante a cópula.

*O gênero fúngico de maior prevalência encontrado foi o *Cladosporium* spp.

* *Aspergillus flavus* foi encontrado na vagina de cabras hípidas, sendo a primeira citação.

*O gênero *Micrococcus* spp. foi altamente prevalente frente aos demais gêneros bacterianos encontrados.

*Agentes bacterianos potencialmente patogênicos como *Pseudomonas alcaligenes*, *P. aeruginosa* e *Corynebacterium* spp., foram encontrados na cavidade vaginal de cabras sem determinar quadro clínico algum.

*Considerando-se os três momentos do ciclo estral observados (proestro, pós-cópula e pós-parto), o número de espécies isoladas de bactérias foi superior na fase de pós-cópula e que o número de espécies isoladas de fungos foi maior após o parto.

*A citologia vaginal teve associação significativa com as bactérias isoladas, observada pela presença de cocos e bacilos nas lâminas com crescimento bacteriano, porém a mesma associação não foi obtida no isolamento para fungos filamentosos e leveduras.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABABNEH, M.M; DEGEFA, T. Bacteriological findings and hormonal profiles in the postpartum balady goats. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 41, n. 1, p. 12-16, 2006.
- AINSWORTH, G.C. AUSTIWICK, P.K.C. **Fungal diseases of animals.** Surrey: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1973. 216p.
- ALLEN, W. E.; DAGNALL, G. J. R. Some observations on the aerobic bacterial flora of the genital tract of the dog and bitch. **J. Small Anim. Pract.**, v. 23, p. 325-335, 1982.
- ALLEN, W. E. Abnormal vaginal cytology in a fertile bitch. **Journal of Small Animal Practice**, v. 26, p. 333-335, 1985.
- ALVARENGA, M. E. **Avaliação de diferentes métodos de colheita e da eficiência do exame citológico em detectar alterações sazonais e patológicos do endométrio equino.** 1996. 91f. Tese de Doutorado - Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu, 1996.
- ANDRADE, J.B. **Estudo microbiológico e citológico do trato genital de gatas domésticas.** 2006. 39f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.
- BABA, E. Vaginal and uterine microflora of adult dog. **Am. J. Vet. Res.**, v. 44, n. 4, p. 606-609, 1994.
- BAKER, C.B.; KENNEY, R.M. Systematic approach in the diagnosis of the infertility or sub-infertile mare. In: MORROW, D.A. **Current therapy in theriogenology.** Philadelphia: W.B. Saunders, p. 721-736, 1980.
- BALASSU, M.T.; TORRES, E.B.; VIZMANOS, M.F.C. Bacteriologic profile of the uterus and vagina of non-pregnant buffalo-cows. **Philadelfia J. of Medicine**, v. 29, n. 2, p. 35-41, 1992.
- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.E. **Illustrated genera of imperfect fungi.** 4 ed., Saint Paul: MN, 1999. 218 p.
- BJURSTRÖM, L. Aerobic bacteria occurring in the vagina of bitches with reproductive disorders. **Acta. Vet. Scand.**, v. 34, n. 1, p. 29-34, 1993.
- BJURSTRÖM, L.; FORSBERG-LINDE, C. Long term study of aerobic bacteria of genital tract in breeding bitches. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 5, p. 665-669, 1993.
- BLUE, M.G. Mycotic invasion of mare's uterus. **Veterinary Record**, v. 113, p. 113-131, 1983.

CAMPERO, C.M.; CONOSCIUTO, G., ODRIOZOLA, E. Hallazgos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos en vaca lecheras, asociados con problemas reproductivos. **Revista Medicina Veterinaria Buenos Aires**, v. 72, n. 6, p. 264-272, 1992.

CLEFF, M.B.; FARIA, R.O.; ANTUNES, T.A., MEINERZ, A.R.M., NASCENTE, P.S.; SORIA, F.B.; NOBRE, M.O.; LIMA, A.P.; MEIRELES, M.C.A.. Congresso Brasileiro de Microbiologia, XXII, 2003, Florianópolis. **Espécies de Cândida isoladas da cavidade vaginal de fêmeas caninas nas diferentes fases do ciclo estral: anais do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Florianópolis: SBM, 2003. 93 p.

CLEFF, M.B.; MEINERZ, A.R.M.; FARIA, R.O.; ANTUNES, T.A.; NASCENTE, P.S.; SOUZA, L.L.; XAVIER, M.O.; NOBRE, M.O.; LIMA, A.P.; MEIRELES, M.C.A. Congresso Brasileiro de Microbiologia, XXII, 2003, Florianópolis. **Fungos leveduriformes isolados da vagina de fêmeas caninas nas fases do ciclo reprodutivo: anais do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Florianópolis: SBM, 2003. 94 p.

COLLINS, S.M. Study of incidence of cervical and uterine infection in Thoroughbred mares in Ireland. **Veterinary Record**, v. 66, p. 673-676, 1964.

CRUZ, L.C.H.; ROSA, C.A.R. Aborto Micótico em Bovinos: Considerações sobre o diagnóstico e revisão da literatura relevante. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 4, n. 1, p. 16-19, 1981.

DAVID, J.C. A contribution to the systematics of *Cladosporium*. **Myc. Papers**, n. 172, p. 1-157 ilustr., 1997.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. **Compendium of soil fungi**. v. I and II. London: Academic Press., 1980.

DOYLE, L.; YOUNG, C.L.; JANG, S.S.; HILLIER, S.L. Normal vagina aerobic and anaerobic bacterial flora of the rhesus macaque (*Macaca mullata*). **Journal of Medical Primatology**, v. 20, p. 409-413, 1991.

ELLIS, M.B. **Dematiaceus Hyphomycetes**. Wallingford, UK: CAB International, 1971. 608p.

ELLIS, M.B. **More Dematiaceus Hyphomycetes**. Wallingford, UK: CAB International, 1976. 507 p.

ESPI, A. Diagnóstico laboratorial de los problemas reproductivos en el ganado vacuno. Aborto de etiología no vírica. **Producción Animal**, v. 129, p. 2-22, 1998.

GARCIA, M.E.; BLANCO J.L. Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales domésticos. **Rev. Iberoam. Micol.**, v. 17, p. 2-7, 2000.

GUIDO, M.C.; PAZ, R.C.R.; COSTA, E.O.; ZUGE, R.M.; BENITES, N.R.; BARNABÉ, V.H.; BARNABÉ, R.C. Congresso Brasileiro de Veterinária, 2000. **Microbiota prepucial e vaginal de felinos neotropicais mantidos em cativeiro: anais do Congresso Brasileiro de Veterinária: SBMV**. Águas de Lindóia – SP, 2000. 27 p.

HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 446 p.

HOLST, B.C. Characterization of the bacterial population of the genital tract of adult cats. **Am. J. Vet. Res.**, v. 64, n. 8, p. 963-968, 2003.

HOOG, G.S.; GARRO, J.; TAN, C.S.; WINTERMANS, R.G.F.; GENE, J. **Atlas of clinical fungi**. Netherlands: Baarn, 1995. 720p.

JENSEN, H.E.; LATGE, J.P. An analysis of antibodies against *Aspergillus fumigatus* in bovine serum by immunoblotting and enzyme-linked immunosorbent assays. **APMIS**, v. 103, p. 124-130, 1995.

KLICH, M. **Identification of common *Aspergillus* species**. Utrech, Netherlands: CBS, 2002. 116p.

KONEMAN, G.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WIN, W.C. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. 5 ed. São Paulo: Medisi, 2001.

KUNZ, T.L.; GAMBARINI, M.L.; OLIVEIRA FILHO, B.D.; GALINDO, A.D.S. Mortalidade embrionária em bovinos: inter-relações embrião-patógenos. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, n. 8, p. 28-36, 2002.

KURTZMAN, C.; FELL, J. **The Yeasts**. A Taxonomic Study. 4th ed. Amsterdam: Elsevier, 1998.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C. **Micologia veterinária**. 8^a ed. São Paulo: Sarvier, p. 469-482, 1991.

LANGONI, H.; ALVARENGA, M.A.; PAPA, F.O.; SAKAMOTO, C.; SIMON, J.J.; LISTONI, F.J.P.; CARREIRA, E.L.C. Estudo microbiológico e citológico do trato genital de éguas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 46, n. 6, p. 623-636, 1994.

LIANJUAN, M.; YUEMIN, L.; XUN-M. Microbial flora of the vagina of cows after parturition. **Chinese Journal of Veterinary Science and Technology**, v. 25, n. 5, p. 26-27, 1995.

LING, G.; RUBY, A.L. Aerobic bacteria flora of prepuce, urethra, and vagina of normal adult dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 39, n. 4, p. 695-698, 1978.

- LUCA, L.A. **Ginecologia: Semiologia Clínica e Laboratorial**. São Paulo: Sarvier, p. 15-32, 1981.
- MELLO, M.L.V. **Avaliação clínica e colpocitológica de cadelas com problemas reprodutivos em clínicas do estado do Rio de Janeiro**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1997. 114p.
- MELLO, M.L.V. Colpocitologia em cadelas e gatas http://www.homeopatiaonline.com.br/leomello_colpo.html acessado em 16/02/2005.
- MILLS, J.N.; VALLI, V.E.; LUMSDEN, J.H. Cyclical changes of vaginal cytology in the cat. **Canadian Veterinary**, v. 20, n. 4, p. 95-101, 1979.
- MORAES, I.A. **Investigações sobre a fisiopatologia da reprodução em micos leões (*Leontopithecus* sp., LESSON, 1840) mantidos em cativeiro (*Callitrichidae* - Primates)**. Tese de Doutorado - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004. 156p.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. Guanabara Koogan AS: Rio de Janeiro, 1992. 1084 p.
- NETO, J.B.L. Exames colpocitológicos. Disponível em: <http://www.procelula.com.br/jornal/edicao6.html>. Acesso em: 25 mar. 2004.
- NEVES, C.P.; ROSSI, C. R.S.; ALMEIDA, L.E.F.; MORAES, I.A. Estudo comparativo entre os métodos de Papanicolaou e Coloração Diferencial Rápida (CDR) em citologia vaginal de cadelas. **Rev. Brás. Reprod. Anim.** v. 25, n. 3, p. 476- 477, 2001.
- OLIVEIRA, C.M.; COSTA, E.O.; SILVA, J.A.P. O pH vaginal em fêmeas caninas híginas durante o ciclo estral. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 20, n. 1, p. 32-34, 1998.
- OLIVEIRA, C.M.; COSTA, E.O.; SILVA, J.A.P. Microbiota aeróbia em fêmeas caninas híginas durante o ciclo estral. Avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 20, n. 2, p. 78-84, 1998.
- OLSON, P. N.; THRALL, M.A.; WYKES, P.M. Vaginal cytology. Part 1. A useful tool for staging the canine estrous cycle. **Comp. Cont. Ed. Prac. Vet.**, v. 6, p. 288, 1984.
- PAPANICOLAOU, G.N. A new procedure for staining vagina smears. **Science**, v. 95, p. 438-439, 1942.
- PITT, J. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. North Ryde, Australia: CSIRO. p. 187 ilustr., 2000.
- PUGH, D.G.; MARTIN, M.T.; SHULL, J.W.; BOWEN, J.M. Endometrial candidiasis in five mares. **Journal of equine Veterinary Science**, v. 6, p. 40-43, 1986.

- 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.
- RAPOSO, R.S.; SILVA, L.D.M. Comparação qualitativa de diferentes técnicas de coloração para citologia vaginal em cabras da raça Saanen. **Ciência Animal**, v. 9, n. 2, p. 81-85, 1999.
- ROSZVEL, J.F. Normal canine vaginal cytology. **Vet. Clin. North. Am.**, v. 7, p. 667, 1977.
- SANTOS, A.G. **Avaliação da microbiota vaginal de cadelas usando como diagnóstico isolamento e colpocitologia.** Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006. 38p.
- SCHUTTE, A.P. Canine vaginal cytology II Cyclic changes. **J. Small Anim. Pract.**, v. 8, p. 307, 1967.
- SHARDA, R.; MOGHE, M.N.; TANWANI, S.K. Antibiotic sensitivity pattern of bacteria isolated from repeat breeding animals. **Indian Veterinary Journal**, v. 68, p. 197-200, 1991.
- TONIOLLO, G.H.; CURY, S.R.; VICENTE, W.R.R.; CAMACHO, A.A.; GARCIA, J.M.; VANTINI, R. Colpocitologia do ciclo estral em gatas. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 32, n. 2, p. 125-129, 1995.
- VERMA, S.; KATOCH, R.C.; JAND, S.K.; NIGAM P. Fungi associated with abortions and infertility in does and ewes. **Veterinarski Arhiv.**, v. 69, n. 1, p.1-5, 1999.
- VERMA, H.K.; SHARMA, D.K.; KAUR, H.; DHABLAMA, D.C. A bacteriological study of repeat breeders cows and their treatment. **Indian Veterinary J.**, v. 47, n. 6, p. 467-470, 1994.
- WATTS, J.R.; WRIGHT, P.J.; WHITHEAR, K.C. Uterine, cervical and vaginal microflora of normal bitch through the reproductive cycle. **J. Small Anim. Pract.** v. 37, p. 54-60, 1996.

ANEXO 01

Materiais utilizados na coleta de amostras:

Luvas estéreis;
Escovas ginecológicas estéreis;
Swabs estéreis;
Sondas uretrais nº 08 estéreis;
Seringas de 10 mililitros estéreis;
Salina estéril;
Lâminas de microscopia de borda fosca;
Cubas para fixação dos esfregaços;
Álcool absoluto para a fixação dos esfregaços;
Etiquetas de identificação;
Tubos contendo meio de transporte;
Isopor para conservação;
Tubos estéreis para as amostras de lavado vaginal;

Nas fêmeas caprinas as coletas foram realizadas na seqüência seguinte:

1. Escova ginecológica objetivando a confecção de esfregaços em lâminas para colpocitologia;
2. Swab para a obtenção de amostra destinada ao cultivo e isolamento bacteriano.
3. Lavado vaginal para o estudo micológico.

ANEXO 02

PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS

**Laboratório de Leveduras Patogênicas e Ambientais
DMIV - UFRRJ**

PROCEDÊNCIA : _____ REGISTRO : _____

OBSERVAÇÕES :

1- EXAME DIRETO :

2- CRESCIMENTO EM MEIOS USUAIS :

CRESCIMENTO EM MEIO COM ÁCIDO GRAXO :

3- MICROCULTIVO E TUBO GERMINATIVO :

PM : BL : AR : TG : CL : OUTROS :

4- ASCOS E ASCOSPÓROS :

POSITIVOS :

5- OUTRAS PROVAS :

SÍNTESE DO AMIDO :

PRODUÇÃO DE MELANINA :

TTC :

6- AUXANOGRAMA

KNO ₃	6- RAFINOSE	14- XILOSE
PEP	7- TREALOSE	15-ERITRITOL
N-ACETIL GLUCOSAMINA -D-	8- RAMNOSE	16-ADONITOL
1-LACTOSE	9- CELOBIOSE	17-MANOSE
2- GLICOSE	10- GALACTOSE	18- DULCITOL
3- SACAROSE	11- INULINA	19-ARABINOSE
4- MELIBIOSE	12-MELEZITOSE	20-FRUTOSE
5- MALTOSE	13- INOSITOL	21-XILITOL

7- ZIMOGRAMA

1-RAFINOSE :

2-GLICOSE :

3-LACTOSE :

4-MALTOSE :

5-SACAROSE :

6-TREALOSE :

7-GALACTOSE :

IDENTIFICAÇÃO :

PM : Pseudo micélio BL : blastoconídio AR : artroconídio TG : tubo germinativo
CL : clamidoconídio OUTROS : presença de cápsula, formação dos blastoconídios (em cacho, ramificados) etc.