



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

---

**Identificação e perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos.**

**MARCUS PORTUGAL**

Monografia apresentada para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

**Brasília / DF  
2011**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**Identificação e perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos.**

**MARCUS PORTUGAL**

Monografia apresentada para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, sob orientação do Prof. Me. Fábio Henrique Bezerra Ximenes.

**Brasília/ DF  
2011**

## FICHA CATALOGRÁFICA

PORTUGAL, Marcus

Identificação e perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos. /Marcus Portugal; orientação de Fábio Henrique Bezerra Ximenes – Brasília, 2011. 39 p.: il.

Monografia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

1. Palavras chave: cabras, mastite subclínica, resistência microbiana, microrganismos, ágar

### Cessão de Direitos

Nome do Autor: Marcus Portugal

Título da Monografia de Conclusão de Curso: Identificação e perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos.

Ano: 2011

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

---

(Assinatura)

Marcus Portugal

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: PORTUGAL, Marcus

Título: Identificação e perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos.

Monografia de conclusão do Curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Me. Fábio Henrique Bezerra Ximenes

Instituição:

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Mv. Lucio Neves Huaixan

Instituição:

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Mv. Paulo Cesar Villa Filho

Instituição:

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Brasília

Dezembro 2011

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais e minhas irmãs que me sustentaram durante esses cinco anos, sem pedirem nada em troca.

Aos meus amigos, tanto os da época de Colégio Militar quanto os da veterinária, se eu consegui chegar aqui foi, em parte, culpa de vocês.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, por todo apoio e paciência que tiveram comigo durante toda a minha vida. Por acreditarem em mim e no meu desejo de seguir a profissão de Médico Veterinário. Agradeço pelo amor de ambos, pela criação que tive e pelo dinheiro investido em mim.

Agradeço a Sr<sup>a</sup>. Norma Célia Gomes Sesana e ao Sr. Armando Sobral Rollemberg por haver disponibilizado suas propriedades para que esse estudo pudesse ser disponibilizado.

Ao Felipe Romão, que me ajudou a fazer as coletas para que eu pudesse escrever essa monografia e pela amizade que, com toda certeza só se fortaleceu nesse período.

Agradeço aos grandes amigos Guilherme Marques, a quem considero um irmão, que nunca me negou um almoço em sua casa, ao João Gabriel e ao Ernane de Paiva que me ensinaram grande parte do que eu sei sobre Medicina Veterinária.

Ao Lucas Aragão, pelos cinco anos de amizade e histórias que, se contássemos as pessoas não acreditariam. Agradeço também ao Elpídio que sempre me socorreu financeiramente sem fixar prazos para os pagamentos, ao Humberto que me ensinou os percalços administrativos de ser um diretor do CAVET, a todas as diretorias do CAVET as quais fui membro; ao Rafael, ao Diego, ao Gabriel ao João, ao Luis, ao José Mario e ao Ramon pelas risadas e baladas que estávamos juntos, ao Caio pelo Churedes, à Thaís pela ajuda em inspeção de carnes, ao Marco Lopes, ao André Amancio e ao Mauro pelas rodas de viola e pagode, nesse quesito também entra o Rômulo pelo acompanhamento do violão com o travesseiro.

Não poderia deixar de agradecer ao professor Fábio, a quem nunca consegui chamar de professor, pela força desde os tempos de residência e por me orientar nessa monografia. Ao professor José Renato que, é uma excelente pessoa e um exemplo a ser seguido na profissão. A professora Simone, por me dar meu primeiro estágio e acreditar em mim; ao pessoal do seu laboratório, em especial ao Hudson ao Vinicius e a Manuella, que me ajudaram com a monografia. A professora Rosana que sempre me apoiou, a todos os residentes que passaram pelo Hospital Veterinário nesses quatro anos que passei como estagiário, vocês foram muito importantes na minha formação acadêmica.

Agradeço a todos os amigos que não foram citados aqui. Se tivesse citado vocês os agradecimentos seriam maiores que a monografia em si, mas todos contribuíram para que eu estivesse aqui hoje, por isso eu agradeço por todos os anos que estivemos juntos.

## RESUMO

PORTUGAL, M. Identificação e perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos. 2011. 41p. Monografia (Conclusão do Curso de Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

O objetivo deste trabalho é identificar os microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos leiteiros das raças Saanen e Anglonubiana de duas propriedades localizadas em Sobradinho-DF e Luziânia-GO. Foram coletadas para exame, as amostras de animais que apresentavam algum grau de mastite subclínica confirmada pelo teste do CMT (California Mastitis Test) em, no mínimo, uma metade mamária. Nessas condições foram coletadas amostras de 17 animais totalizando 34 metades mamárias para exame. Para a coleta, realizada durante a ordenha, efetuou-se a antisepsia do óstio do teto com álcool a 70° INPM. Procedeu-se a coleta do leite em frasco de coleta estéril que foi identificado e armazenado em caixa isotérmica contendo gelo. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Medica Veterinária da Universidade de Brasília. Essas amostras foram então armazenadas em estufa a 37°C por 24 horas. Após esse período as amostras eram semeadas em placas de petri contendo ágar sangue e novamente levadas a estufa a 37°C por 24 horas para favorecer o crescimento dos microrganismos. Após esse tempo as placas seguiam para análise e identificação, quando não possuíam colônias com diferenças macroscópicas partia-se para um novo isolamento em ágar sangue a fim de determinar com exatidão os agentes infecciosos. Foram isolados 26 microrganismos, após coloração de Gram e testes de sensibilidade bacteriana, dispostos da seguinte forma: *Staphylococcus Aureus* (n=3; 11%) *Bacillus* spp. (n=11; 42%) *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (n=10; 38%), *Pseudomonas aeruginosa* (n=1; 3,8%) e levedura (n=1; 3,8%). Em todos eles foram efetuados antibiogramas em ágar Mueller Hinton e ágar Mueller Hinton sangue para avaliar a eficácia dos antibióticos tobramicina, norfloxacina, gentamicina, enrofloxacino, cefalexina, cefazolina e oxacilina sendo que os quatro primeiros tiveram uma maior eficiência, com perfil de sensibilidade dos microrganismos chegando a 100%.

Palavras chave: cabras, mastite subclínica, resistência microbiana, microrganismos, ágar

## ABSTRACT

M. Identification and sensitivity profile of microorganisms that cause subclinical mastitis in goats. 2011. 41p. Monograph (Completion of the Course of Veterinary Medicine) – Faculty of Agronomy and Veterinary Medicine, University of Brasilia, Brasilia, DF.

The objective of this study is to identify the microorganisms that cause subclinical mastitis in dairy goats and Saanen breeds Anglonubiana two properties located in Sobradinho Luziânia DF and GO. Were collected for examination, samples from animals that had some degree of subclinical mastitis confirmed by testing the CMT (California Mastitis Test) in at least half a breast. Under these conditions, samples of 17 animals a total of 34 half breast for examination. To collect, held during milking, we performed the antisepsis of the ostium of the ceiling with alcohol at 70 ° INPM. There has been collecting the milk in a bottle of sterile collection was identified and stored in isothermal box containing ice. The samples were sent to the Veterinary Laboratory of Medical Microbiology, University of Brasilia. These samples were then stored at 37 ° C for 24 hours. After this period the samples were plated on petri dishes containing blood agar and again brought to 37 ° C for 24 hours to promote the growth of microorganisms. After that time followed the signs for analysis and identification, when they had differences with macroscopic colonies broke to a new isolation on blood agar to accurately determine the infectious agents. We isolated 26 microorganisms after Gram stain and bacterial sensitivity tests, arranged as follows: *Staphylococcus aureus* (n = 3, 11%) *Bacillus* spp. (N = 11; 42%) *Staphylococcus* spp. coagulase-negative (n = 10, 38%), *Pseudomonas aeruginosa* (n = 1, 3.8%) and yeast (n = 1, 3.8%). In all antibiograms were performed on Mueller Hinton agar and Mueller Hinton blood agar to assess the effectiveness of antibiotics tobramycin, norfloxacin, gentamicin, enrofloxacin, cephalexin, cefazolin and oxacillin being that the first four had a higher efficiency with sensitivity profile of microorganisms reaching 100%.

Keywords: goats, subclinical mastitis, microbial resistance, microorganisms, agar



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Raquete para realização do CMT.....	26
<b>Figura 2</b> – Aspecto do reagente utilizado no teste.....	27
<b>Figura 3</b> – Resultado do CMT.....	27
<b>Figura 4</b> – Frasco coletor estéril.....	28
<b>Figura 5</b> – Placa de Ágar sangue estriada com amostra para crescimento celular .....	29
<b>Figura 6</b> – Placa de ágar sangue contendo crescimento bacteriano .....	29
<b>Figura 7</b> – Bactérias Gram-positivas.....	29
<b>Figura 8</b> – Bactérias Gram-negativas.....	30
<b>Figura 9</b> – Placa semeada em ágar Muller Hinton contendo discos de antibióticos.....	31
<b>Figura 10</b> - A) Placa contendo ágar sal manitol.....	33
<b>Figura 11</b> - Placa indicando o consumo de manitol pelo <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
<b>Figura 12</b> - Antibiograma de <i>Bacillus spp.</i> demonstrando eficácia dos antibióticos.....	35

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Composição do leite caprino.....	18
Tabela 2 - Microrganismos totais isolados em cultura pura de amostrar de leite .....	32
Tabela 3 - Microrganismos isolados por propriedade.....	32
Tabela 4 - Resultado do teste de sensibilidade.....	34

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>CMT</b>	California Mastitis Test
<b>DF</b>	Distrito Federal
<b>GO</b>	Goiás
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>°C</b>	graus Celsius
<b>CCS</b>	Contagem de Células Somáticas
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>ml</b>	mililitro
<b>cm</b>	centímetro

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO I: REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
<b>I.1 Caprinos e sua produção no Brasil .....</b>	<b>15</b>
<b>I.2 Características e aspectos nutricionais do leite caprino.....</b>	<b>16</b>
<b>I.3 Qualidade e parâmetros normativos do leite.....</b>	<b>17</b>
<b>I.4 Mastite.....</b>	<b>19</b>
<b>I.5 Agentes causadores de mastite em cabras.....</b>	<b>22</b>
<b>CAPÍTULO II: Identificação e perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos.....</b>	<b>26</b>
<b>II.1 Material e métodos.....</b>	<b>26</b>
II.1.1 Coleta do material.....	26
II.1.2 Isolamento e identificação bacteriana.....	28
II.1.3 Antibiograma.....	30
<b>II.2 Resultados e discussão.....</b>	<b>31</b>
<b>II.3 Conclusão .....</b>	<b>35</b>
<b>II.4 Considerações finais.....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>37</b>

## INTRODUÇÃO

O rebanho caprino brasileiro está estimado em 9 milhões de animais segundo censo do IBGE (2010). O leite de cabra é um produto que começa a ganhar mercado no Brasil, agregando cada vez mais adeptos ao seu consumo, por suas qualidades nutritivas e seus componentes vitais à nutrição humana, como açúcar, principalmente a lactose, proteínas, gorduras, vitaminas, ferro, cálcio, fósforo e outros minerais (COSTA, 2008). Os pequenos ruminantes possuem papel importante na nutrição e na renda da população mundial

Com sua distribuição em 436 mil estabelecimentos agropecuários, fez com que o Brasil despontasse em 18º lugar do ranking mundial de exportações. A maior parte do rebanho está na região Nordeste, com destaque para Bahia, Pernambuco, Piauí e Ceará. A produção de leite de cabra é de cerca de 21 milhões de litros e envolve, em grande parte, estabelecimentos de pequeno porte (MAPA).

Na agropecuária, é mundialmente visível o crescimento da caprinocultura leiteira. No fim dos anos de 1980, a produção mundial de leite caprino teve aumento considerável atingindo 15.510.416 toneladas em 2009. O Brasil contribui com grande parte da produção de leite de cabra no continente americano, cuja quantidade anual produzida foi de 0,92% (aproximadamente 144 mil toneladas) do total mundial em 2009 (FAO, 2011). No DF a criação de cabras vem crescendo, devido ao aumento do consumo de leite e seus derivados o que pode ser explicado pela grande quantidade de imigrantes nordestinos que o DF possui, sendo estes familiarizados com o consumo desse leite e seus derivados. Outro fator considerável no consumo é o crescimento da divulgação das propriedades do leite de cabra em relação ao leite de vaca.

A mastite é o processo de inflamação que atinge a glândula mamária, tendo ou não origem infecciosa. É descrita por modificações nos tecidos glandulares e/ou do leite, possuindo as formas clínica, classificadas em aguda, subaguda ou crônica, e subclínica. Os fatores desencadeantes da enfermidade são: a alta atividade do úbere, retenção de leite, ferimentos externos e a falta de higiene. A mastite clínica é a menos comum em caprinos e é detectada, geralmente, no final da gestação, estando acompanhada de febre e depressão. A glândula mamária apresenta aumento de temperatura, aumento de volume, dor ao toque e o leite apresenta-se alterado, com possibilidade de apresentar cheiro fétido. As mastites subclínicas e crônicas são comumente observadas, sendo que a glândula mamária e o aspecto do leite permanecem sem alterações, ocorre diminuição da produção e o número de células

epiteliais no leite aumenta (RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C., 2010). São mais difíceis de detectar visualmente necessitando do teste de CMT para confirmação.

Este trabalho encontra-se dividido em dois capítulos; no primeiro encontra-se uma revisão de literatura acerca da definição da produção do leite caprino e seus aspectos nutricionais, bem como o diagnóstico e os principais agentes causadores da mastite; o segundo capítulo é composto pela descrição e discussão do experimento intitulado “Identificação e perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos”.

## **CAPÍTULO I: REVISÃO DE LITERATURA**

### **I. 1 Caprinos e sua produção no Brasil**

Os caprinos foram trazidos para as Américas pelos colonizadores europeus sendo que, estes se adaptaram perfeitamente nas áreas tropicais onde hoje eles estão concentrados. Os animais foram introduzidos no Brasil pelos portugueses que, assim como os colonizadores, tiveram seu primeiro habitat no litoral antes de serem levados para a caatinga, devido à expansão da cultura da cana-de-açúcar, onde adquiriram alto nível de rusticidade e resistência às doenças, escassez de água e fontes de alimento (SILVEIRA, 2008).

A adaptação dos caprinos às grandes variações nos níveis climáticos, ambientais e de manejo faz com que eles tenham um escore de eficiência na produção maior que qualquer outro ruminante doméstico, como o bovino, ovino ou bubalino, podendo ser criado em regiões com condições desfavoráveis para o desenvolvimento das outras espécies produtoras de leite ou carne. (QUADROS, 2008).

Os crescentes investimentos em genética, manejo, instalações, reprodução e sanidade do rebanho, assim como na qualidade e no aproveitamento do leite caprino e seus derivados têm alterado de forma crescente a situação da criação no país. Entre as décadas de 80 e 90<sup>a</sup> produção nacional de leite de origem caprina aumentou 51,6%, mostrando o crescimento do mercado consumidor e o interesse, por parte dos produtores na atividade (QUADROS, 2008).

Segundo dados de 2009 da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) o Brasil produziu cerca de 144 mil toneladas de leite de cabra, um aumento de 4 mil toneladas em relação ao ano de 2008; mas ainda muito aquém de países com a França que, em 2009, teve uma produção de mais de 620 mil toneladas do mesmo produto.

Segundo dados do IBGE, em 2010 o rebanho brasileiro de caprinos era por volta de 9,313 milhões de cabeças. No Distrito Federal esse número era de 1.769 animais, representando cerca de 0,019% do contingente nacional, mas não haviam dados sobre a produção de leite nem a quantidade de animais criados para esse fim.

A exploração de cabras leiteiras está sendo implantada em grande parte das cidades brasileiras, tendo uma grande perspectiva econômica, vinda do comércio de leite como opção para o incremento da alimentação da sociedade, na fabricação de queijos e produtos lácteos.

Na atual conjuntura, o desenvolvimento da produção nacional de leite é um fato consumado, porém a qualidade desse leite e a de seus derivados está abaixo do desejado, podendo comprometer o produto industrializado. A produção e o beneficiamento dos insumos dependem, em grande parte, das condições de higiene, sanidade e de manejo tanto nas propriedades quanto no beneficiamento, para reduzir a contaminação por agentes químicos e microbiológicos (ALVES, 2008).

## **I.2 Características e aspectos nutricionais do leite caprino**

O leite de cabra é um produto que começa a ganhar mercado no Brasil, agregando cada vez mais adeptos ao seu consumo, por suas qualidades nutritivas e seus componentes vitais à nutrição humana. O tamanho das partículas de gordura no leite caprino é menor que o leite de vaca o que facilita o processo de digestão. Pelo fato de também não possuir aglutinina, proteína que une as partículas de gordura formando um coalho mais difícil de digerir (COSTA, 2008). Além disso, possui grande importância entre os insumos de origem animal utilizados na alimentação pela sociedade já que contém, proporcionalmente, aminoácidos e calorias, em quantidades iguais ou maiores do que os recomendados pela Organização Mundial da Saúde para o consumo diário (GOMES et al., 2004).

Segundo Haenlein (2004), as propriedades bioquímicas maximizam o valor nutritivo do leite de cabra, podendo ser indicado para o público infantil, especialmente as que possuem intolerância alérgica ao leite de vaca, pessoas com distúrbios gastrintestinais, para suplementar a alimentação de pessoas idosas e com desordens a nível nutricional e pessoas que fazem tratamento quimioterápico, por diminuir a queda dos cabelos. O consumo de 1 litro de leite diariamente supre em até um terço as necessidades diárias de uma pessoa adulta.

Silveira (2008) considera o leite caprino um excelente suplemento para a alimentação de idosos, pessoas com saúde debilitada, crianças alérgicas, e os praticantes da alimentação natural. É aconselhado como o melhor substituto do leite materno, por suas semelhanças físico-químicas. É um alimento saudável, destacando-se em relação ao leite de vaca por possuir um rápido processo de digestão, evitando a produção excessiva de gases pela fermentação, diarreias, constipação e outros efeitos adversos. Os glóbulos de gordura do leite de vaca podem ser 5,53 vezes maiores que os do leite de cabra, sendo essa a principal desvantagem do leite de vaca sobre o caprino.

Em sua composição natural encontramos os ácidos cáprico, capróico e caprílico. São ácidos graxos voláteis de cadeia curta utilizados em tratamentos de má absorção



gastrintestinal por sua capacidade energética e ação inibitória e limitante sobre a deposição de colesterol nos tecidos, além de dissolver as placas depositadas. (HAENLEIN,2004).

O leite de cabra é um líquido de cor branca, de cheiro e sabor agradáveis. Sua coloração é motivada pela ausência de caroteno (precursor de vitamina A), e presença de grande quantidade de vitamina A. Possui um sabor característico, que pode se apresentar mais forte dependendo do manejo, da alimentação e do ambiente onde os animais se encontram. O cheiro normalmente não é observado, mas se possuir odor ruim é devido a problemas higiênico-sanitários tanto do animal quanto dos equipamentos utilizados na ordenha. Pode também possuir um mau cheiro quando o bode se encontra no mesmo local das cabras em lactação impregnando-as e transmitindo o odor diretamente ao leite. Nessas condições denomina-se cheiro hircino. (QUADROS, 2008).

### **I.3 Qualidade e parâmetros normativos do leite**

Para que se possa oferecer um leite de boa qualidade é necessário observar seus parâmetros físico-químicos, já que esta é a principal exigência do mercado consumidor e dos laticínios. A atenção com a higiene dos equipamentos e instalações, com a sanidade animal e os cuidados de transporte da matéria-prima, beneficiamento e armazenagem, são imprescindíveis para que o alimento esteja apto para consumo. (MAGALHÃES, 2005). A sua composição química o torna um eficaz meio de cultura de microrganismos (DOYLE et al., 1997; CHYE et al., 2004). Esse fator torna indispensável a preocupação com a higiene e o armazenamento, em baixas temperaturas, desde a ordenha ao beneficiamento para garantir que não haja perda das características iniciais, físico-químicas e nutricionais, desse produto (BONFOH et al., 2003).

O leite caprino possui uma acidez natural variando de 17,5° a 18,5° Dornic, que é a escala utilizada para avaliar a acidez do leite detectando o aumento da concentração de ácido láctico que, por sua vez, é originado da fermentação dos açúcares presentes no mesmo, sendo indicativo da qualidade microbiológica. Deve-se tomar cuidado com esse teste, já que outros componentes do leite (citratos, fosfatos ou proteínas) podem mascarar esse parâmetro. O leite de cabra possui uma densidade de 1,030 a 15°C. Na tabela 1 podem ser observados os valores típicos da composição do leite (SÁ, 1978; TECNOLOGIA, 1987; SPREER, 1991).

Tabela 1: Composição do leite caprino.

Componentes	%
Água	86,1
Gordura	4,8
Proteína	3,9
Lactose	4,4
Sais	0,8
Total	100

Fonte: SÁ, 1978.

A Instrução Normativa nº 37 de 31/10/2000 (BRASIL, 2000) traz valores limites para os componentes indicadores de qualidade e composição do leite de cabra. Alterações nesses indicadores determinam alterações no leite desfavorecendo seu consumo sendo eles:

- Contagem padrão em placas (contagem total): menor/igual a 500.000 UFC/mL;
- 2,8% de proteína bruta;
- 4,3% de lactose;
- 8,2% de sólidos não gordurosos;
- 0,7% de cinzas;
- 0,13% de acidez;
- Acidez titulável (graus Dornic): 0,13 a 0,18 °Dornic;
- Densidade relativa: 1024 a 1028 g/L;
- Índice crioscópico: -0,585 a -0,550 °H;
- Contagem de células somáticas (CCS): limite não definido.

As células somáticas são encontradas no leite, mas são originadas no sangue e epitélio da glândula mamária. As células que extravasam da corrente sanguínea para a parede glândula geralmente devido a um estímulo, são os leucócitos. Possuem a capacidade de defesa a microrganismos, substâncias irritantes e traumas. Uma pequena proporção é devido ao desprendimento das células do epitélio da glândula, devido ao envelhecimento natural do epitélio (SOUZA et al., 2007).

A CCS é um indicativo da qualidade do leite. A CCS normal de cabras saudáveis é maior do que em vacas. Enquanto nas vacas a CCS varia de 40.000 a 80.000 células/ml. de leite, nas cabras esse número pode variar de 50.000 a 400.000 células /ml. Isso ocorre principalmente pelo fato de a secreção do leite das cabras ser do tipo apócrina, ou seja, ocorre a secreção do leite juntamente com partículas celulares do epitélio secretório da glândula. Essas partículas

são corpúsculos citoplasmáticos além de neutrófilos, células epiteliais, linfócitos e monócitos (TONIN,1999).

As diferenças existentes entre as glândulas de cabras e vacas, tanto na sua fisiologia quanto na sua microbiota, evidenciadas em diversos estudos, indicam que devem ser instituídas adaptações nos testes diagnósticos se estes forem utilizados em leite de cabra (PERRIN et al., 1997).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento não determinou limites máximos para a CCS no leite de cabra mas com a tecnificação e o grande intercâmbio de produtos entre os países, esses limites deverão ser adotados em um curto espaço de tempo. A necessidade de estudos desse indicador e sua influência na qualidade do leite dessa espécie é um fator que dificulta a definição do limite na CCS já que este, se não avaliado corretamente, pode desestimular a produção e fazer com que aja uma queda na qualidade do produto (MAGALHÃES, 2005).

#### **I.4 Mastite**

A mastite é o processo de inflamação que atinge a glândula mamária, tendo ou não origem por infecciosa. É descrita por modificações nos tecidos glandulares e/ou do leite. Possui as formas clínica, classificadas em aguda, subaguda ou crônica, e subclínica. Os fatores desencadeantes da enfermidade são: a alta atividade do úbere, retenção de leite, ferimentos externos e falta de higiene. A mastite clínica é a menos comum em caprinos e é detectada, geralmente, no final da gestação, estando acompanhada de febre e depressão. A glândula mamária apresenta temperatura acima do considerado normal, aumento de volume, dor ao toque e o leite apresenta-se alterado, podendo apresentar cheiro fétido. As mastites subclínicas e crônicas são comumente observadas. A glândula mamária e o aspecto do leite permanecem sem alterações. A produção diminui e o número de células epiteliais no leite aumenta (RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. et al., 2010).

Áreas frias ou úmidas, com grande quantidade de lama, ou situações de estresse nutricional e de manejo favorecem o aparecimento da mastite devido a diminuição do aporte sanguíneo para a glândula mamária ou pelo aumento na liberação de cortisol (BRUERE; WEST, 1993).

A mastite é uma enfermidade infecciosa que causa os maiores prejuízos financeiros aos produtores de leite pelo fato de causar uma queda na produção de leite tanto pela redução da quantidade quanto pelo declínio dos índices qualitativos ou até pela perda de função da

glândula acometida. Os altos índices de severidade e incidência das mastites se devem ao melhoramento genético das raças leiteiras visando o aumento da produção (SMITH e ROGUINSKY, 1977).

Além disso, ocorrem gastos com a necessidade de assistência por parte médico veterinário e da compra de medicamentos para o tratamento. No âmbito da saúde pública a mastite também tem grande importância pelos agentes infecciosos causadores dessa enfermidade (DULIN et al., 1983; BARROS; LEITÃO, 1992; GUSS, 1975). De acordo com Baudry et al. (1997) a mastite subclínica pode ocasionar prejuízos que vão de 55 a 132 kg de leite/ano e queda no teor de gordura de até 3 gramas/kg por animal.

Na mastite subclínica os sinais resultam de alterações nos componentes do leite como aumento na CCS, além dos teores de proteínas séricas, cloro e sódio. Geralmente ocorrem diminuições nos níveis de caseína, gordura e lactose. Sem sinais visuais de doença, esse tipo de mastite necessita de testes auxiliares para o seu diagnóstico, o que pode levar a uma falsa sensação de sanidade por parte do produtor, em relação à mastite. Estimativas dão conta que, numa propriedade com 100 animais, para cada caso de mastite clínica confirmada existam outros 35 casos de mastite subclínica na propriedade. (FONSECA; SANTOS, 2000; BUENO et al., 2002). A mastite subclínica tem grande importância econômica por causar queda acentuada na produção e pela maior ocorrência em relação a mastite clínica (GROSS et al., 1987; MARCO MELERO, 1994). A importância epidemiológica é maior pois o rebanho pode possuir animais infectados sem que se percebam alterações visuais no úbere ou mesmo no leite (BLOOD E RADOSTITIS 1991; AZEVEDO et al., 2006). Segundo Langenegger et al. (1981) a forma subclínica da doença é a que causa maiores prejuízos devido a persistência do processo infeccioso que não causa sinais evidentes a inspeção macroscópica.

O diagnóstico de mastite é realizado através de método e teste específicos, sendo eles: o teste da caneca telada, o California Mastitis Test (CMT), a CCS, exame do teor de cloreto e exames microbiológicos para determinar agentes infecciosos. O exame clínico deve ser feito de maneira que se observe a presença de sinais inflamatórios na glândula mamária, podendo ser através de inspeção ou palpação. As mastites subclínicas não são possíveis de diagnosticar através do exame clínico, devendo ser utilizado o teste de CMT, CCS ou o exame microbiológico (FONSECA; SANTOS, 2000; TONIN, 1999). Embora a mastite clínica seja responsável por perdas expressivas em pequenos ruminantes, a mastite subclínica assume elevada relevância econômica em decorrência dos prejuízos na produção e da maior ocorrência (GROSS et al., 1987; MARCO MELERO, 1994). Apresenta, também, maior importância epidemiológica, pois pode estar presente no rebanho sem que sejam percebidas

alterações macroscópicas à inspeção do úbere ou de sua secreção (BLOOD E RADOSTITIS 1991; AZEVEDO et al., 2006). O grande número de patógenos causadores de mastite subclínica nas cabras e com o aumento da resistência microbiana fazem necessários estudos para se instituir protocolos de tratamento baseados em testes de sensibilidade *in vitro* (DE LA CRUZ et al., 1994; MARCO MELERO, 1994).

Para realizar a CCS como exame de diagnóstico de mastite deve-se ter o cuidado de usar métodos de contagem com especificidade para DNA através de contador eletrônico de células ou contagem microscópica direta utilizando corantes específicos para DNA para que os corpúsculos citoplasmáticos não alterem o resultado do exame (TONIN, 1999).

O CMT é o teste mais fácil e barato para se diagnosticar a mastite subclínica. Seu funcionamento consiste em estimar o número de células somáticas no produto. Sua fórmula contém um detergente neutro aniônico que promove o rompimento da membrana celular expondo o DNA da célula, que é altamente viscoso. Pelo grau dessa viscosidade, em partes iguais de leite e reagente, é que ocorre a avaliação do leite. O teste deve ser realizado em instrumento próprio para o exame, para evitar falhas no resultado que são descritos em cinco escores, sendo eles: negativo, traços, um, dois ou três sinais positivos (FONSECA; SANTOS, 2000). Nas cabras a interpretação dos resultados da CCS ainda é bastante conflitante, já que pode considerar um animal com mastite subclínica quando os resultados são iguais a 1+ ou 2+. Também devem ser observado o estágio de lactação desses animais já que elas podem apresentar um resultado elevado no CMT em ambas às metades com probabilidade maior de ser um estado fisiológico do que um caso de mastite bilateral. (SANTOS; CASTRO; COSTA, 1995).

O teste de teor de cloreto também é utilizado no diagnóstico da mastite subclínica. O íon cloreto faz parte da circulação sanguínea. Com o aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos durante a inflamação, esse íon atravessa a parede das veias capilares e se deposita nos alvéolos mamários. Quando o nível de cloreto de sódio, que é o mais comum nesses casos, está acima de 0,2% é um indicativo de mastite subclínica (BARCELLOS; SILVA; MARQUES JÚNIOR, 1987).

Outra possibilidade de avaliar o leite é através da contagem microscópica de células somáticas. Os resultados desse teste são mais demorados em comparação ao CMT. Para a realização da contagem, é preparado um esfregaço do leite em uma lâmina de microscópio numa área de um cm e realizar coloração específica para contagem. Conta-se no mínimo 25 campos visuais e multiplica-se o número de células contadas por um fator de correção obtendo o número de células/mL de leite. Nesse método, à medida que o leite envelhece o número de

células vai diminuindo devido a uma perda da integridade da membrana. Por isso a contagem deve ser realizada nas primeiras 24 horas depois de realizada a coleta da amostra (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

Quanto maior o grau de inflamação do úbere menor é a produção do leite e sua composição se assemelha a do sangue pela passagem de componentes para o meio extravascular chegando aos ductos da glândula mamária (BRITO e BRITO, 1998). No caso de invasão por patógenos a resposta imune se dá pelas barreiras físicas e pela resposta imune natural e artificial previamente adquirida por meio de vacinas (HOMAN e WALTIAUX, 1996). A resposta à inflamação que ocorre na glândula é necessária para a destruição ou inativação dos patógenos, das toxinas e para permitir a produção natural do leite. Com isso, as células epiteliais podem ser destruídas, sendo estas, importantes para a produção dos componentes do leite como proteínas e gordura, com consequente redução na qualidade e quantidade de leite produzido (BRITO et al., 2002).

O elevado número de patógenos causadores de mastite e a crescente ineficácia dos antibióticos no combate a essa enfermidade, indicam a necessidade de protocolos de tratamento baseados em testes de sensibilidade microbiana (DE LA CRUZ et al., 1994; MARCO MELERO, 1994). A identificação e o isolamento juntamente com a realização do antibiograma é o método mais eficaz para diagnosticar e determinar o agente causador da mastite para que o veterinário possa agir de maneira efetiva contra a infecção, seja para a melhora no manejo ou no ambiente, de acordo com os resultados obtidos (BRITO et al., 1999). A identificação dos organismos e sua sensibilidade frente aos fármacos, deve maximizar as taxas de cura e reduzir as de resistência dos microrganismos (SILVA et al., 2004). Chapaval (2007) define como aspectos essenciais para um bom programa de controle da mastite o correto diagnóstico e o monitoramento constante dos animais e dados colhidos.

## **I.5 Agentes causadores de mastite em cabras**

A mastite pode ser classificada em infecciosa ou ambiental, se obtivermos como parâmetro o seu agente microbiológico causador. (FONSECA; SANTOS, 2000). A forma infecciosa ocorre com uma pequena frequência em cabras e geralmente remete, a uma má higienização das metades mamárias, ou dos equipamentos utilizados no momento da ordenha. Em alguns casos essa mastite é causada pelo borrego no ato da mamada. (RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C., 2010; RADOSTITS et al., 2002). A mastite ambiental é ocasionada por microrganismos comuns ao ambiente do animal em especial locais com

acúmulo de fezes, urina, camas orgânicas e lama. Esse tipo de infecção é mais comum nas cabras, podendo ter casos agudos em situações de pré ou pós-parto. Como a presença desses agentes ocorre em todo ambiente animal de forma difusa, a erradicação dessa mastite se torna impossível. O confinamento incorreto dos animais os torna mais susceptíveis a mastite ambiental aumentando a sua ocorrência (FONSECA; SANTOS, 2000).

De acordo com Radostits et al. (2002) os principais agentes causadores da mastite infecciosa são: por *Staphylococcus* coagulase positiva, como o *S. aureus* e pelos *Staphylococcus* coagulase negativa, como o *S. epidermidis* e *S. caprae*, *S. agalactiae* além do *Corynebacterium bovis* e os da mastite ambiental são as enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klesbsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*), *Nocardia* spp., *Pseudomonas aeruginosa* além de fungos e algas. Segundo estudo de Bezerra et al. (2006) das 200 amostras de leite de cabra 101(50,5%) foram positivas ao exame bacteriológico. Os microrganismos isolados eram: *Staphylococcus* coagulase negativo (76,2%), *Corynebacterium* sp. (5,9%), *Staphylococcus* coagulase positiva (3,9%), *Serratia* sp. (3,9%), *Streptococcus* sp. (2,9%), *E. coli* (2,9%), *Actinomyces* sp. (0,9%), *Bacillus* sp. (0,9%), *Pasteurella* sp. (0,9%) e *Micrococcus* (0,9%).

A mastite ambiental é causada por microrganismos que possuem vida livre no local onde os animais se alojam. Geralmente são encontrados em locais com acúmulo de fezes, urina, lama e camas orgânicas. É responsável por uma elevada frequência no rebanho, com manifestação aguda e é normalmente diagnosticada nas épocas de pré e pós-parto das cabras. Como esses agentes estão presentes em todo o ambiente em que estão os animais a erradicação desta doença é praticamente impossível. Esse tipo de mastite é mais comum em rebanhos com boas práticas de manejo e com baixa CCS. (FONSECA; SANTOS, 2000).

O *Streptococcus* spp. e as enterobactérias não possuem uma grande patogenicidade nas cabras, diferentemente da mastite bovina. Entre os possíveis motivos estão o tipo de manejo a que as cabras são submetidas, o tipo de piso utilizado nos apriscos que diminui o contato dos animais com os agentes infecciosos (CONTRERAS et al., 1995). Os casos de mastite por *Pseudomonas* spp. também ocorrem com pouca frequência. Nas cabras a presença desse agente é relacionada com cama molhada contaminada e água contaminada (WHITE; HINCKLEY, 1999).

O *Staphylococcus aureus* é o maior responsável pela infecção da glândula mamária das cabras, tanto na mastite clínica quanto na subclínica. É uma bactéria Gram positiva, imóvel, com formato esférico, não esporulado e anaeróbio facultativo, fermentativas de açúcares resultando na produção de ácidos. Crescem em temperaturas que variam entre 7 a

48°C, com 30 a 37°C de temperatura ótima para desenvolvimento (BERGEY'S, 1994 ). O agente em si não é o problema nas infecções, mas as enterotoxinas que são produzidas e liberadas para o meio é que causam as alterações patológicas na glândula. Além disso, essa toxina tem uma alta resistência, continuando ativa mesmo se exposta a uma temperatura de 100°C durante 30 minutos (ALVES et al., 2006). Tem uma enorme importância na medicina veterinária por ser responsável por afecções que atingem desde tecido cutâneo até infecções generalizadas com relevância nos animais para as infecções de glândula mamária (FREITAS et al. 2004).

O *S. aureus* possui um grande poder de infecção devido à capacidade de esse microrganismo produzir exopolissacarídeos que formam uma capa protetora que diminui a eficácia a resposta imunológica e aos medicamentos. Ele é capaz de contaminar diferentes superfícies e a pele de animais sadios (CONTRERAS et al., 2001).

O atual sistema de manejo e ordenha dos animais promove a entrada do agente na glândula através do canal do teto. O patógeno coloniza ativamente o canal de ejeção do leite com a transmissão ocorrendo pelo ordenhador ou pelas teteiras da ordenhadeira mecânica contaminadas. Normalmente ocorre a infecção da glândula por meio de feridas e lesões na superfície do teto. Após a entrada há o surgimento de feridas agudas ou crônicas, dependendo de uma série de fatores para a ocorrência, sendo eles: a capacidade do agente em colonizar a glândula, a capacidade do animal em produzir resposta inflamatória e imunológica e o manejo que esse animal é submetido (GOMES, 2007).

Gomes (2007) explica ainda que a mastite por *S. aureus* geralmente é subclínica crônica, não possuindo alterações macroscópicas visíveis, mas interferindo na qualidade do leite e causando perdas econômicas. A mastite gangrenosa é mais comum de ocorrer em cabras primíparas levando a uma grande perda de epitélio glandular devido a lesões tóxicas nos vasos e conseqüente isquemia das áreas afetadas.

*Staphylococcus* coagulase negativa tem maior importância na forma subclínica da doença (TONIN, 1999). São bactérias oportunistas que devido às deficiências na higiene da ordenhadeira infectam os animais. Existem inúmeras espécies que afetam os caprinos que levam a mastites subclínicas de diferentes graus sendo a *S. caprae* o de maior destaque. Em alguns casos podem levar a uma mastite clínica ou subclínica persistente dependendo da eficiência do sistema imunológico dos animais (CONTRERAS et al., 2001).

Santos (2001) propõe que essas bactérias são os principais patógenos isolados nas amostras de leite dos animais com mastite. Eles não estão no grupo de agentes ambientais



nem contagiosos sendo designados como flora oportunista da pele já que eles são encontrados normalmente na pele da glândula desses animais.

Os bacilos Gram. positivos tem uma menor importância que os negativos nas mastites caprinas. São relacionados com a produção de manifestações subclínicas com uma elevação irrisória dos restos celulares e incapacidade de produzir infecções persistentes de longa duração, podendo levar a diagnósticos falso positivos. Bacilos Gram. positivos, como *Bacillus* spp. e *Clostridium perfringens* já foram isolados em amostras com mastite mas ocorrem com pouca frequência(CONTRERAS et al., 2001).

## **CAPÍTULO II: Identificação dos microrganismos causadores de mastite subclínica em caprinos.**

### **II.1 Material e métodos**

As coletas de leite foram realizadas em duas propriedades produtoras de leite e queijo, sendo uma localizada na Região Administrativa de Sobradinho, DF e a outra nos área rural do município de Luziânia, GO totalizando dezessete animais clinicamente saudáveis, das raças Saanen e Anglonubiana, de diferentes idades e estágios de lactação, todos diagnosticados com mastite subclínica em, pelo menos, uma metade mamária através do CMT. O isolamento, identificação e antibiograma das amostras foram realizados no Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária FAV/UnB, Brasília, DF, baseando-se nos protocolos preconizados por Quinn et al. (1994) e Bauer et al. (1966).

#### **II.1.1 Coleta de material**

As coletas foram realizadas na parte da manhã, antes da primeira ordenha. Com a glândula mamária limpa foi feita a antissepsia do teto com álcool 70%. Em seguida foi realizado o CMT através de raquete própria (figura 1) para o exame. Desprezou-se os três primeiros jatos de cada teto e, em seguida, coletado o leite de ambas metades mamárias até a marcação existente na raquete (aproximadamente 2ml). Feito esse procedimento adicionou-se 2mL de reagente (figura 2) e homogeneizou-se a solução a fim de determinar o grau da mastite.



Figura 1. Raquete própria para realização do CMT.



Figura 2. Aspecto do reagente utilizado no teste.

Como os resultados do CMT são subjetivos, todos os testes realizados foram avaliados por duas pessoas com relativa experiência no diagnóstico antes de se admitir o grau da patologia. Após confirmação da mastite pelo teste (figura 3) procedeu-se a coleta do leite.



Figura 3. Resultado do CMT.

Uma pequena quantidade de leite (10ml), das 2 metades mamárias, era coletado em frascos estéreis (figura 4) e identificados com a numeração do animal. Em seguida eram acondicionados em uma caixa termoisolante contendo gelo reciclável. Ao término das coletas de todos os animais as amostras eram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Clínica Veterinária FAV/UnB. Esse procedimento foi realizado da mesma maneira nas duas propriedades em que houve a coleta.



Figura 4. Frasco coletor estéril

### **II.1.2 Isolamento e identificação bacteriana**

Todo o material coletado era armazenado em estufa a 37°C assim que chegava ao laboratório e lá permanecia por 24 horas. Esse procedimento favorece o crescimento dos microrganismos presentes no leite, facilitando posteriormente a cultura dos mesmos. Passado esse período as amostras eram repicadas em Ágar sangue 5% (figura 5) com uma alça de platina, identificadas e levadas à estufa com temperatura de 37°C por 24 horas para que ocorresse o crescimento celular (figura 6). O passo seguinte foi a análise das características macroscópicas das colônias formadas no ágar. Se não houvesse diferença entre as colônias o próximo passo a ser feito é a coloração de Gram, desenvolvida por Hans Cristian Joaquim Gram, se houvesse as colônias eram novamente repicadas em novas placas contendo ágar sangue e repetia-se os procedimentos para o crescimento dos microrganismos. Em seguida os patógenos eram identificados por meio de características tintoriais, morfológicas e bioquímicas (QUINN et al., 1994) descritos a seguir. Com o isolamento inicial, foi realizado o exame de esfregaços, no microscópio, corados pelo método de Gram, conforme Sobreira et al. (1982) descreveu. Esse método verifica a forma e a coloração dos microrganismos onde as que possuem uma coloração violácea a púrpura são classificadas como Gram-positivas (figura 7) e as que possuem uma coloração rósea a avermelhada são as Gram-negativas (figura 8). Também foram classificados quanto a forma em cocos ou bastonetes.

Os testes bioquímicos usados para a identificação dos patógenos isolados foram: catalase, coagulase, o metabolismo de Manitol (KONEMAN, et al 1999; MAC FADDIN, 1973).



Figura 5. Placa de Ágar sangue estriada com amostra para crescimento celular.

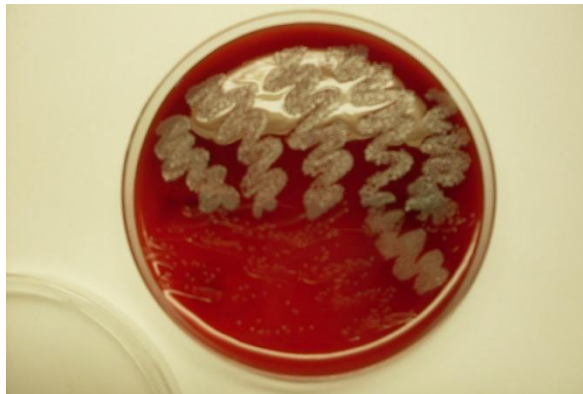


Figura 6. Placa com crescimento bacteriano.

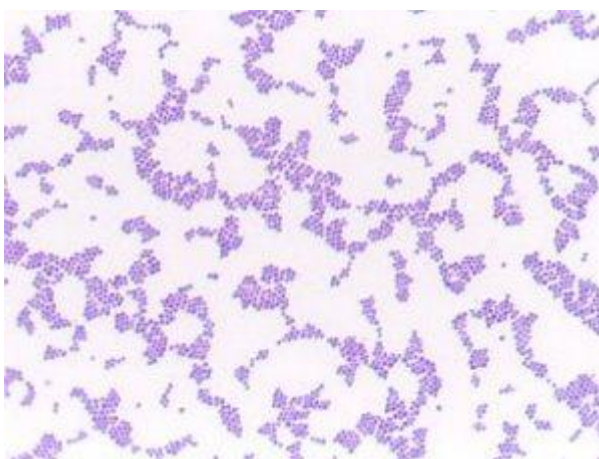


Figura 7. Bactérias Gram-positivas



Figura 8. Bactérias Gram-negativas.

Fonte: <http://matheuseandressav03.wordpress.com/2011/04/05/213/>

Nos cocos Gram-positivos identificados é efetuado o teste da catalase. Esse teste consiste na exposição de uma pequena quantidade da colônia bacteriana em uma gota de

solução de peróxido de hidrogênio 3% previamente colocada em uma lamina de microscópio. Se houver formação de bolhas significa que a enzima catalase, presente no cultivo, decompõe o peróxido liberando o oxigênio. Esse teste serve para diferenciar o *Streptococcus* spp., que são catalase negativos, do *Staphylococcus* spp. (JANG et al., 1988; OLIVEIRA, 1994). Em seguida, os estafilococos foram para a prova de coagulase. Essa prova consiste em introduzir as bactérias num tubo de ensaio contendo plasma sanguíneo com anticoagulante e incubar em estufa a 37°C por 24 horas. A formação de coágulos no tubo indica que o microrganismo é coagulase positivo. A estafilocagulase é uma enzima proteica, produzida pelos patógenos, que coagula plasma sanguíneo transformando fibrinogênio em fibrina. Além disso a coagulase positiva leva a suspeita da presença de *Staphylococcus aureus*, já que este é coagulase positiva.

Já os bastonetes foram classificados quanto ao Gram, sendo Gram-positivos. Devido a impossibilidade de classificar as cepas de forma a obter um resultado conclusivo essas foram identificadas com *Bacillus* spp. a *Pseudomonas aeruginosa* Isolda em Agar para isolamento próprio e confirmada na prova de fluorescência ultra violeta, apresentando brilho azul-esverdeado devido a formação do pigmento piocianina azul ou azul-verde pela

### **II.1.3 Antibiograma**

A sensibilidade dos patógenos aos antibióticos foi determinado pelo método de difusão em disco Kirby-Bauer (BAUER et al., 1966). Nesse método uma pequena quantidade de cada um dos microrganismos isolados foram, individualmente, semeados em tubos contendo caldo Muller Hinton e encubados até que estes ficassem turvos, segundo escala 0,5 de Mac Farland. Os tubos com o caldo são homogeneizados e, com o auxílio de um swab estéril os microrganismos são espalhados por toda a placa contendo o Ágar Muller Hinton ou Muller Hinton sangue de maneira uniforme. Logo após os discos de filtro contendo os antibióticos foram adicionados à cultura. Os antibióticos usados foram: tobramicina, norfloxacino, gentamicina, enrofloxacino, cefazolina, cefalexina e oxacilina; todos na sua respectiva concentração comerciais. As placas foram levadas a estufa a 37°C por 24 horas e depois analisadas (figura 9).

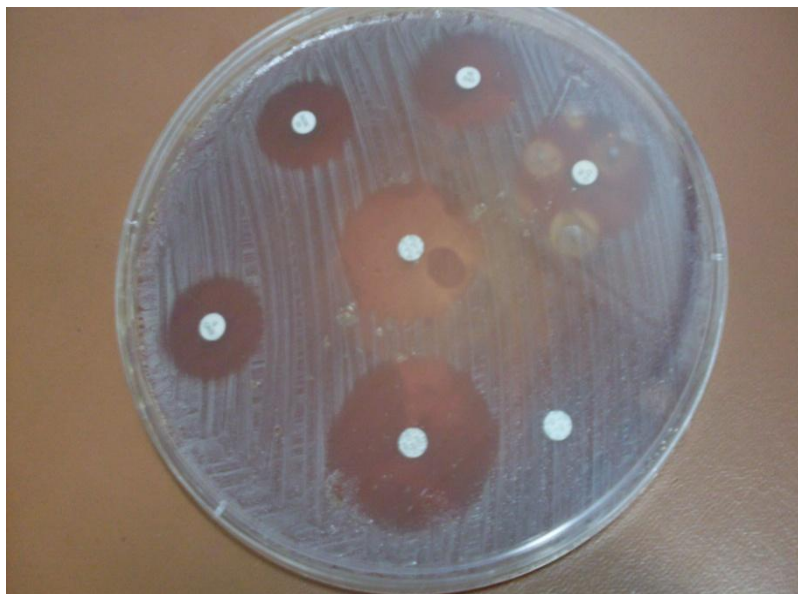


Figura 9. Placa semeada em Ágar Muller Hinton contendo discos de antibióticos.

Os dados foram interpretados a partir da leitura do halo de inibição do crescimento das bactérias em torno dos discos, medido com o auxílio de régua milimetrada como Thornsberry e Sherris (1985) recomendam. As circunferências de inibição foram medidas em milímetros e os antibióticos foram classificados em resistente, intermediário (sensibilidade parcial) ou sensível.

## II.2 Resultados e discussão

Das 34 metades mamárias coletadas para diagnóstico, não houve crescimento na placa de ágar sangue de 8 amostras. Pode creditar a isso o fato dessas metades mamárias não terem sido positivas ao CMT mas, foram coletadas pelo fato de a outra metade mamária ter sido diagnosticada com no mínimo 1+. Dessas amostras em que não houve crescimento celular 6 delas eram de caprinos da raça Saanen provenientes da propriedade de Sobradinho, DF as outras duas de caprinos Anglonubianos da localizada em Luziânia, GO. Os resultados do isolamento estão na tabela 2. Na tabela 3 os microrganismos foram divididos por local de origem.

Tabela 2. Microrganismos totais isolados em cultura pura de amostrar de leite .

<b>Microrganismo</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
<i>Bacillus spp.</i>	11	42,3
<i>Staphylococcus spp.</i> coagulase negativo	10	38,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3,85
Levedura	1	3,85
<i>Straphylococcus aureus</i>	3	11,5
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>100</b>

Tabela 3. Microrganismos isolados por propriedade.

<b>Propriedade</b>	<b>Microrganismo</b>	<b>Frequência %</b>
Fazenda Colatina Sobradinho, DF (n = 14)	<i>Staphylococcus spp.</i> coagulase negativo	62,5
	<i>Bacillus spp.</i> Levedura	25 12,5
Fazenda Recanto das Águas Luziânia, GO (n = 20)	<i>Bacillus spp.</i>	50
	<i>Staphylococcus spp.</i> coagulase negativo	27,8
	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16,7 5,5

Na tabela 2 pode-se observar que os microrganismos isolados foram. *Straphylococcus Aureus* (n = 3 11,5%) *Bacillus spp.* (n=11; 42,3%) *Staphylococcus spp.* coagulase negativo (n=10; 38,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (n=1; 3,85%) e levedura (n=1; 3,85%). Embora Radostits et al. (2002) não considere o *Bacillus spp.* como um dos principais agentes causadores de mastite subclínica ou outros estudos o considerarem um contaminante (BARCELLOS et al., 1987) no experimento pode se notar a alta frequência desse microrganismo nas culturas realizadas. Ribeiro et al. (1999) e Bezerra et al. (2006) identificaram *Baccilus spp.* como causadores de mastite, em menor número que os resultados aqui obtidos (2,6% e 0,9% das amostras de leite com isolamento bacteriano,respectivamente).



Na tabela 3 observa-se que não houve grande variação nos microrganismos isolados por propriedade. Houve uma inversão da frequência entre o *Bacillus* spp. e o *Staphylococcus* spp. coagulase negativo. Na Fazenda Colatina foi observado o crescimento de uma levedura, não classificada devido ao fato do laboratório não possuir todos os testes diferenciais necessários para a determinação do microrganismo. Já na Fazenda Recanto das Águas foi notado o crescimento de *Staphylococcus aureus* causando uma mastite subclínica em três metades mamárias de três animais diferentes. Como pode ser observado (figuras 10A e 11) as amostras de estafilococos foram cultivadas em Ágar sal manitol e, as que apresentaram coloração amarelada, após armazenamento em estufa a 37°C por 24 horas, foram classificadas como *Staphylococcus aureus*. A mudança de coloração ocorre pelo fato do *Staphylococcus aureus* consumir o manitol contido na placa. A mudança nos resultados pode ter relação com as mudanças no ambiente já que a coleta realizada na Fazenda Colatina se deu durante o ápice do período da seca, enquanto que na Fazenda Recanto das Águas a coleta foi realizada no início da época das chuvas. Outro fator é a área em que os animais permanecem. Na primeira propriedade o espaço de pastagem para as cabras é menor que na segunda, e o tempo de permanência no aprisco é relativamente maior. O antibiograma foi realizado após a classificação e seus resultados estão na tabela 4.



Figura 10. Placa contendo Ágar sal manitol



Figura 11. Placa indicando o consumo de manitol pelo *Staphylococcus aureus*

Tabela 4. Resultado do teste de sensibilidade.

Antimicrobiano	<i>Staphylococcus spp. coagulase negativo</i> (10)* %	<i>Bacillus spp</i> (11)* %	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1)* %	<i>Staphylococcus aureus</i> (3)* %	<i>Levedura</i> (1)* %
<b>Tobramicina</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Norfloxacino</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Gentamicina</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Enrofloxacino</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Cefazonila</b>	<b>80</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Cefalexina</b>	<b>80</b>	<b>18</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Oxacilina</b>	<b>30</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>33</b>	<b>100</b>

\*Número de amostras, e respectiva percentagem de amostras sensíveis.

A tabela demonstra a efetividade dos antibióticos de eleição para o tratamento da mastite. A oxacilina teve o pior desempenho frente aos patógenos, tendo efeito reduzido nos estafilococos e não possuindo nenhum efeito sobre os bacilos. As drogas com o perfil de sensibilidade mais satisfatório foram o norfloxacino e o enrofloxacina com eficácia de 100% frente aos organismos isolados. A gentamicina, a tobramicina, a obtiveram resultados satisfatórios frente a todos os agentes. A cefalexina e a cefazolina demonstraram ser uma má escolha frente à infecção por *Bacillus spp.* (figura 12).

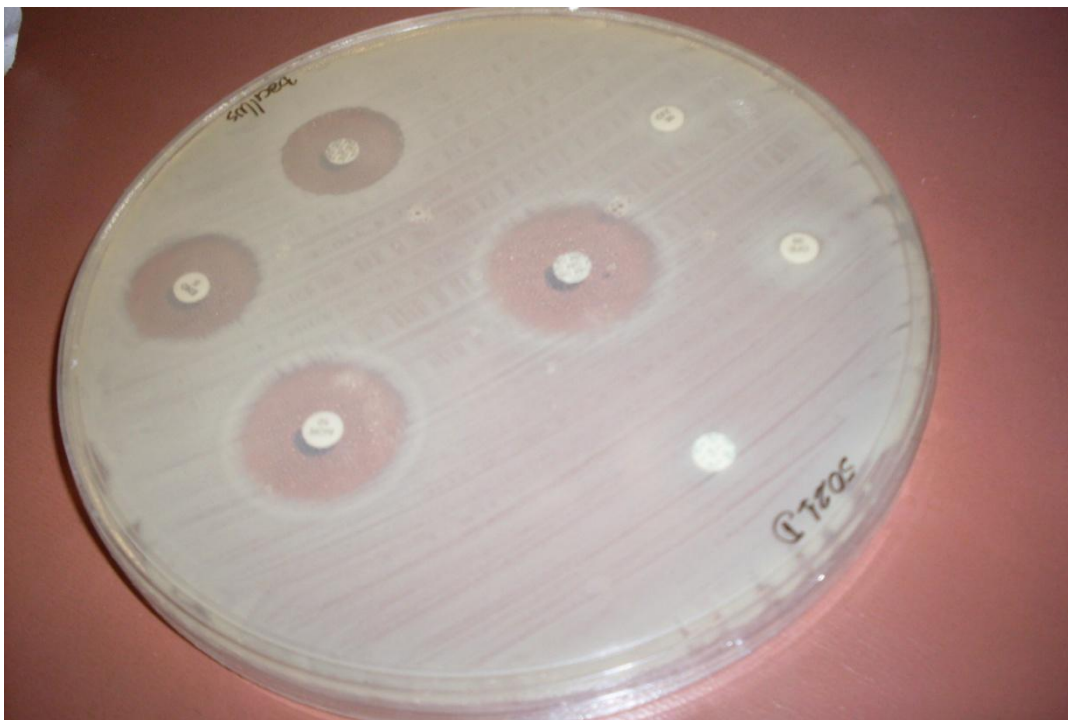


Figura 12. Antibiograma de *Bacillus spp.* demonstrando eficácia dos antibióticos.

### II.3 Conclusão

O presente estudo observou os microrganismos causadores de mastite subclínica mais frequentes na região, com ampla presença de *Staphylococcus spp.* coagulase negativa e *Bacillus spp.*. Isso se deve a maneira como esses animais são criados (regime semi-intensivo) e nas práticas de manejo que esses animais recebem. A brusca mudança climática que acontece na região também é um fator de influencia para esses resultados.

A maior parte dos antibióticos de eleição ainda possuem uma eficácia contra os patógenos, devendo-se tomar cuidado com a sua administração para que não se crie resistência aos mesmos.

## **II. 4 Considerações finais**

Trabalhos como esse tem grande importância para a devida orientação de manejo higiênico e sanitário, nos que diz respeito aos produtores e auxiliar na direção do tratamento, para que este possa ser feito de forma rápida e eficaz, garantindo assim que não haja complicações na infecção fazendo com que haja um agravamento do quadro e a consequente perda da produção leiteira pelo animal. A grande dificuldade é que, estudos desse tipo voltados para a região são muito escassos. Se na região de Brasília e Entorno a caprinocultura de leite vem crescendo rapidamente, o mesmo não se pode dizer sobre as pesquisas sobre a infecção mamária. Essas pesquisas são importantes não só para o tratamento, mas também para a implementação de medidas de profilaxia frente a mastite ambiental.

Esses levantamentos também são importantes para a consulta sobre o rebanho caprino na região já que o próprio Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento não tem nenhum dado referente à produção caprina dos últimos anos na área do estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, F. S. F. **Leite de Cabra e Derivados: As Barreiras Sanitárias**. EMBRAPA.

Disponível em: [http://www.capritec.com.br/artigos\\_embropa020819b.htm](http://www.capritec.com.br/artigos_embropa020819b.htm) . Acesso em 15 nov. 2011.

BARCELLOS, T.F.S., SILVA, N., MARQUES JÚNIOR, A.P. Mamite caprina em rebanhos próximos a Belo Horizonte – Minas Gerais. I – Etiologia e sensibilidade a antibióticos. II – Métodos de diagnóstico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v 39, p. 307-315, 1987.

BARROS, G.C., LEITÃO, C.H. Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. *Pesq. Vet. Bras.*, v.12, p. 45-48, 1992.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-496, 1966.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000. **Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2193> . Acesso em 25 nov. 2011.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M.T. et al. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 51, n.2, p. 33-35, abr. 1999.

BUENO, V.F.F; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.; RIBEIRO A.R.; SILVA, J.A.B.; DA COSTA, E.O.; COELHO, K.O.; NEVES, R.B.S. Mastite bovina clínica e subclínica na região de Pirassununga, SP: frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, v.3, n.2, p.47-52, jul./dez. 2002.

CONTRERAS, A.; CORRALES, J. C.; SIERRA, D.; MARCO, J. Prevalence and aetiology of non-clinical intramammary infection in Murciano-Granadina goats. **Ruminant Research**, v.17, p.71-78, 1995.

CONTRERAS, A.; LUENGO, C.; SÁNCHEZ LÓPEZ, A.; CORRALES, J.C. Etiología de la infección intramamaria caprina en relación con los programas de control. In: XXVI Jornada Científica de la SEOC, Sevilla, p.71-83, 2001.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2ªedição volume 01 Pelotas: ed. VARELA, 426 p. 2010.

COSTA, A.L. Leite Caprino: um novo enfoque de pesquisa. Embrapa Caprinos. Disponível em: <http://www.fmvz.unesp.br/Informativos/ovinos/utilid09.htm>. Acesso em 21 nov. 2011.

DULIN, A.M., PAAPE, M.J. SCHULTZE, W.D., WEINLAND, B.T. Effect of parity, stage of lactation, and intramammary infection on concentration of somatic cells and cytoplasmic particles in goat milk. *J. Dairy Sci.*, v.66, p. 2426-2433, 1983.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO [2009] FAOSTAT – FAO Statistics Division/Production STAT: livestock primary/ production quantity. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/569/default.aspx#ancor>. Acesso em 27 nov. 2011.

FREITAS, M.F.L.; LEAL BALBINO, T.C.; MOTA, R.A.; STAMFORD, T.L.M. Exotoxinas Estafilocócicas. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v.7, n. 2 e 3, p.63-74, maio/dez. 2004.

GOMES, M.J.P. *Staphylococcus* spp. In: LABACVET 2007-II. Microbiologia Clínica. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/staphylo.pdf>. Acesso em 07 set. 2011.

HAENLEIN, G.F.W. Goat Milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**. v. 51, p. 155-163, 2004.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Pecuária Municipal 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/ppm2010.pdf> . Acesso em 01 dez. 2011.

MAGALHÃES, A.C.M. Obtenção higiênica e parâmetros de qualidade do leite de cabra. Viçosa, 2005. Disponível em: [http://www.cpd.ufv.br/dzo/caprinos/artigos\\_tec/hig\\_quali.pdf](http://www.cpd.ufv.br/dzo/caprinos/artigos_tec/hig_quali.pdf). Acesso em 29 nov. 2011.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Caprinos e ovinos. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos>. Acesso em 25 set. 2011.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p.541-629.

QUADROS, D. G. Leite de cabra: produção e qualidade. **Pubvet**. v. 2, n. 1, jan. 2008. Disponível em: [http://www.pubvet.com.br/artigos\\_det.asp?artigo=363](http://www.pubvet.com.br/artigos_det.asp?artigo=363) íntegra disponível em: <http://www.capritec.com.br/pdf/LeiteCabraProducaoQualidade.pdf>. Acesso em 28 nov.2011.

QUINN, P.J., CARTER, M.E., MARKEY, B., CARTER, G.R. **Clinical veterinary Medicine**, London: Mosby-Year ed., 1994, 648p.

SÁ, F.V. **A Cabra**. Lisboa: Livraria Clássica 1978. p.378.

SANTOS, L. F. L dos.; CASTRO, R. S.; COSTA, E. O da. “California Mastitis Test” e “Whiteside Modificado” como critério de triagem para mastite caprina. **Pesquisa**

**Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p.295-298, Fevereiro 1995.

SANTOS, M. V. Impacto econômico da mastite, 2001. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/?noticiaID=16201&actA=7&areaID=61&secaoID=180>. Acesso 26 nov. 2011

SCHALM, O.W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine Mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971, p.360

SILVEIRA, J.A.D. Leite de Cabra. São José dos Campos. Disponível em: <http://www.riocapri.com.br/artigo7.pdf> Acesso em 18 ago. 2011.

SOUZA, G.N.; FARIA, C.G.; MORAES, L.C.D; RUBIALE, L. Contagem de Células Somáticas (CCS) em leite de cabra. Panorama do Leite – Embrapa Gado de Leite, ano 2, n.10, ago.2007. Disponível em: <http://www.cileite.com.br/panorama/qualidade10.html> . Acesso em 30 nov. 2011.

**TECNOLOGÍA de la producción caprina**. Santiago, Chile: Oficina Regional de La Fao para América Latina y el Caribe, 1987. p. 242.

Tonin F.B. 1999. Aspectos da etiopatogenia e diagnóstico da mastite caprina. Anais. Encontro de pesquisadores em mastites, 3, FMVZ/UNESP/Botucatu/SP. p.71-77.

WHITE, E. C.; HINCKLEY, L. S. Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.33, p.117-121, 1999.