

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Rodolfo de Moraes Peixoto

**MASTITE EM PEQUENOS RUMINANTES: ETIOLOGIA, FATORES DE  
RISCO, DIAGNÓSTICO E SENSIBILIDADE AOS AGENTES  
ANTIMICROBIANOS E EXTRATOS DE PLANTAS**

Petrolina - PE

2009

RODOLFO DE MORAES PEIXOTO

**MASTITE EM PEQUENOS RUMINANTES: ETIOLOGIA, FATORES DE RISCO, DIAGNÓSTICO E SENSIBILIDADE AOS AGENTES ANTIMICROBIANOS E EXTRATOS DE PLANTAS**

Trabalho apresentado a Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Ciências Agrárias, como requisito da obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Mateus Matiuzzi da Costa

Petrolina - PE

2009

Peixoto, Rodolfo de Moraes

P377m

Mastite em pequenos ruminantes: etiologia, fatores de risco, diagnóstico e sensibilidade aos antimicrobianos e extratos de plantas/ Rodolfo Moraes Peixoto. – Petrolina, 2009.

114 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco , Campus Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Mateus Matiuzzi da Costa.

#### Bibliografia

1. Caprinos e Ovinos – Doenças. 2. Mastite – Doenças – Caprinos e Ovinos 3. Mastite - Epidemiologia. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 636.39

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca

SIBI/UNIVASF

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO**  
**MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Rodolfo de Moraes Peixoto

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

---

Prof. Dr. Mateus Matiuzzi da Costa  
Orientador (UNIVASF)

---

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota  
Departamento de Medicina Veterinária (UFRPE)

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Agueda Castagna de Vargas  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (UFSM)

Petrolina, 06 de Novembro de 2009.

## **Dedicatória**

Dedico a Raimundo de Alencar Peixoto (meu avô) *in memoriam*.

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus, razão do nosso viver, sem o qual não estaríamos aqui hoje. Obrigado senhor por todos os momentos que tem me proporcionado, sou grato pela minha saúde, família, amigos, enfim, por tudo Senhor.

A minha caminhada também só vem sendo possível graças à minha família, que esteve comigo nas mais diversas situações. Agradeço a minha mãe Maria de Lourdes de Moraes Peixoto e a meu pai Antonio Peixoto Neto, pelo amor, carinho e o constante incentivo. Não poderia deixar de lembrar das minhas duas irmãs: Anne Caroline de Moraes Peixoto e Renata de Moraes Peixoto. Sou muito grato a toda minha família, tios (as), primos (as). Aprendi muito com o meu avô Manuel Nunes de Moraes, talvez ele não saiba disso, mas me ensinou e continua ensinando muita coisa durante as conversas nas tardes de domingo.

Ao meu professor orientador Mateus Matiuzzi da Costa, pelos ensinamentos e apoio em todas as etapas do mestrado. Uma pessoa que tem o prazer de ver seu aluno crescer, e que faz de um tudo para que isso aconteça. Uma pessoa que a cada dia traz ou ensina algo de novo. Ao contrário de alguns orientadores, procura sempre conversar e o que é mais importante, acredita e confia em seus alunos.

A professora Adriana Mayumi Yano de Melo que também me ajudou muito durante a realização do mestrado estando sempre à disposição, além de me dar oportunidades em algumas aulas da graduação.

Ao professor Rinaldo Aparecido Mota que me deu a oportunidade de ingressar na pesquisa. Aos amigos, também da UFRPE, José Wilton, Andréa Alice e Beth que também me ajudaram na concretização de etapas do mestrado.

Ao professor Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida pelos ensinamentos e o fornecimento dos extratos de plantas que foram testadas neste trabalho.

Aos meus amigos: Allan, Flávio, Rogério e Silvano, amizade esta que teve início na escola Agrotécnica, escola que me preparou não somente profissionalmente, mas, para a vida.

Aos amigos que ganhei depois que entrei na UNIVASF: Luciana Jatobá, Isabelle, Chirles, Ceiça, Márcia, Eliene, Nara, Wellington, Aldo, Mary, Samara, Miriam, Evandro, Jarbas, Jael, Nadson, Valdenice, Milka, Jorge, Dalinne, Ruani, Geraldo, Fernanda e Sheilla.

Todos aqueles que me ajudaram diretamente durante esse período, em especial, o Wellington, Aldo, Evandro, Jael, Ceiza, Chirles e a Milka.

Aos colegas de turma do Mestrado em Ciência Animal, além dos professores: Prof.<sup>a</sup> Cristina Krewer, prof.(s): Arthur Mascioli, Edilson Soares e Américo Fróes. Também agradeço aos funcionários da UNIVASF – Ciências Agrárias, pelo constante apoio nas atividades de campo e de laboratório. À Prof.<sup>a</sup> Flaviane Monteiro, que também esteve à disposição durante a realização do mestrado e fez sugestões para este trabalho.

Agradeço também à Embrapa Semi-Árido pelo apoio durante a realização do experimento, em especial ao Dr. Daniel Maia, Dr.<sup>a</sup> Josir Laine, ao Dr. Nataniel Franklin e a Dr.<sup>a</sup> Lúcia Kill, por ter cedido fotos de algumas plantas.

Agradecemos a FACEPE pela concessão da bolsa de pós-graduação, além do CNPq e ao FINEP-IPESB, pelo auxílio financeiro que permitiu à compra de equipamentos e materiais de consumo. Ao IDR Sisal pelo apoio financeiro e pela cedência das instalações para realização do experimento, que em Valente-BA, teve a colaboração do Engenheiro Agrônomo Wellington (Embrapa Semi-Árido), Gerson, Admilson e Idelmário.

A todos os criadores que permitiram a visita e a coleta das amostras, meus sinceros agradecimentos.

Faço um agradecimento a todos os meus professores desde aqueles do maternal até a Universidade!

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta etapa tão importante na minha vida! Muito obrigado!

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>Lista de Abreviaturas e Siglas</b> .....	viii
<b>Lista de Símbolos</b> .....	ix
<b>Lista de Quadros</b> .....	x
<b>Lista de Tabelas</b> .....	xi
<b>Lista de Figuras</b> .....	xii
<b>Resumo</b> .....	xiii
<b>Abstract</b> .....	xiv
<b>Introdução</b> .....	01
<b>Capítulo 1 – Mastite em pequenos ruminantes no Brasil</b> .....	05
Abstract.....	06
Resumo.....	07
1. Introdução.....	08
2. Mastite em pequenos ruminantes: etiologia e epidemiologia.....	08
3. Técnicas de diagnóstico da mastite em pequenos ruminantes.....	16
4. Estratégias de controle e prevenção.....	20
5. Considerações finais.....	24
6. Referências bibliográficas.....	25
<b>Capítulo 2 – Etiologia, sensibilidade antimicrobiana de isolados bacterianos da mastite em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico....</b>	35
Abstract.....	36
Resumo.....	37
1. Introdução.....	38
2. Material e Métodos.....	41
2.1 Local e animais de estudo.....	41
2.2 California Mastitis Test (CMT).....	41
2.3 Coleta das amostras de leite.....	41
2.4 Cultura bacteriana.....	42
2.5 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos.....	42
2.6 Análise estatística.....	43
3. Resultados.....	44
4. Discussão.....	48
5. Conclusões.....	51
6. Referências bibliográficas.....	52

<b>Capítulo 3 – Fatores de risco para mastite subclínica em cabras leiteiras criadas no estado da Bahia.....</b>	<b>56</b>
Resumo.....	57
Abstract.....	58
1. Introdução.....	59
2. Material e Métodos.....	62
2.1 Local e animais de estudo.....	62
2.2 Coleta das amostras de leite.....	62
2.3 Cultura bacteriana.....	62
2.4 Diagnóstico da Caprine Arthritis Encephalitis (CAE).....	63
2.5 Estudo dos fatores de risco.....	63
2.6 Análise estatística.....	64
3. Resultados.....	65
4. Discussão.....	68
5. Conclusão.....	73
6. Referências bibliográficas.....	74
<b>Capítulo 4 – Potencial antibacteriano de plantas nativas do bioma caatinga frente a isolados bacterianos de mastite subclínica caprina e ovina.....</b>	<b>79</b>
Resumo.....	80
Abstract.....	81
1. Introdução.....	82
2. Material e Métodos.....	84
2.1 Coleta do material botânico.....	84
2.2 Processamento do material vegetal.....	84
2.3 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB).....	84
2.4 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos.....	85
2.5 Análise estatística.....	86
3. Resultados.....	87
4. Discussão.....	90
5. Conclusão.....	94
6. Referências bibliográficas.....	95
<b>Considerações finais.....</b>	<b>101</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>102</b>
<b>Apêndices.....</b>	<b>105</b>
1. Questionário – Aspectos sócio-econômicos e epidemiológicos.....	106
2. Plantas da flora do bioma caatinga.....	111

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac	Acurácia
CAE	Caprine Arthritis Encephalitis
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
Cél	Célula
CCS	Contagem de células somáticas
CL	Concentração letal
CMT	California Mastitis Test
EEEs	Extrato etanólico da <i>Encholirium spectabile</i> Mart.
EEBI	Extrato etanólico da <i>Bromelia laciniosa</i> Mart.
EENv	Extrato etanólico da <i>Neoglaziovia variegata</i> Mez.
EEAc	Extrato etanólico da <i>Amburana cearensis</i> (Fr. Allem.) A.C.Smith
EEHC	Extrato etanólico da <i>Hymenaea courbaril</i> L.
EESc	Extrato etanólico da <i>Selaginella convoluta</i> Spring.
Es	Especificidade
GLM	General Linear Models
H	Hora
Há	Hectare
K	Índice kappa
L	Litro
MRSA	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MG	Miligrama
mL	Mililitro
OR	Odds Ratio
SAS	Statistical Analysis System
SCN	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
SCP	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>
Se	Sensibilidade
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

## LISTA DE SÍMBOLOS

N.º	Número
%	Porcentagem
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
+	Positivo
-	Negativo
µL	Microlitro
X	Multiplicação
°C	Graus Celsius

## LISTA DE QUADROS

	Pág.
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Quadro 1.</b> Percentual dos principais micro-organismos isolados de casos de mastite em pequenos ruminantes no Brasil.....	15
<b>Quadro 2.</b> Sensibilidade e/ou limiar de células somáticas de alguns métodos indiretos empregados no diagnóstico da mastite subclínica em caprinos criados em regiões do Brasil.....	20
<b>Capítulo 2</b>	
<b>Quadro 1.</b> Análise comparativa entre o exame microbiológico e CMT nos casos de mastite em cabras no Sertão da Bahia, 2009.....	45
<b>Quadro 2.</b> Análise comparativa entre o exame microbiológico e CMT nos casos de mastite em ovelhas no Sertão da Bahia, 2009.....	45
<b>Quadro 3.</b> Frequências absoluta e relativa de bactérias de leite de cabras e ovelhas nos estados de PE e BA, 2009.....	46

## LISTA DE TABELAS

	Pág.
<b>Capítulo 3</b>	
<b>Tabela 1.</b> Frequências absoluta e relativa dos animais e amostras positivas para a lactocultura em rebanhos de cabras leiteiras no sertão da Bahia, 2009.....	65
<b>Tabela 2.</b> Fatores de risco associados à mastite para caprinos criados na região do Sertão da Bahia, 2009.....	67
<b>Capítulo 4</b>	
<b>Tabela 1.</b> Susceptibilidade de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. aos extratos etanólicos de plantas do bioma Caatinga.....	88

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Capítulo 2</b>	
<b>Figura 1.</b> Percentual de sensibilidade aos antimicrobianos de isolados de mastite ovina e caprina.....	47
<b>Capítulo 4</b>	
<b>Figura 1.</b> Percentuais de sensibilidade dos <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa e positiva (SCN e SCP) para os extratos de plantas da vegetação de caatinga.....	89
<b>Figura 2.</b> Médias da CBM dos extratos de plantas da flora da vegetação de caatinga frente <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa e positiva (SCN e SCP).....	89

## RESUMO

A mastite é uma das enfermidades mais comuns em rebanhos leiteiros, dessa forma, objetivou-se conhecer os principais patógenos e fatores de risco da mastite em ovinos e caprinos, bem como a sua susceptibilidade aos agentes antimicrobianos e extratos de plantas, além de avaliar o grau de concordância entre testes diagnósticos. Foram visitadas 25 propriedades localizadas em Pernambuco e Bahia, coletando-se leite de 439 caprinos e 76 ovinos, totalizando 515 animais. Foi realizado o *California Mastitis Test* (CMT), a lactocultura e o teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Para determinação da atividade bactericida de extratos etanólicos obtidos de plantas do bioma Caatinga: *Encholirium spectabile* Mart., *Bromelia laciniosa* Mart., *Neoglaziovia variegata* Mez., *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C.Smith, *Hymenaea courbaril* L. e *Selaginella convoluta* Spring. Foi encontrada maior frequência de *Staphylococcus* spp., observando-se alta sensibilidade dos isolados aos antimicrobianos. Quanto à análise de concordância entre o CMT e a lactocultura, os valores relativos ao índice Kappa foram de 0,22 e 0,17 para espécie ovina e caprina, respectivamente. Observou-se que a ausência de assistência técnica e a criação de animais mestiços são fatores associados à presença da infecção da glândula mamária em caprinos leiteiros. No estudo com extrato de plantas, aqueles que apresentaram maior atividade inibitória foram os extratos etanólicos da *Amburana cearensis* e *Hymenaea courbaril*. Considerando o baixo custo da fitoterapia e a atividade biológica das plantas do bioma caatinga estudos visando avaliar atividade *in vivo* e a caracterização fitoquímica são necessários.

**Palavras-chave:** caprino, ovino, mastite, etiologia, epidemiologia, diagnóstico, controle.

## ABSTRACT

Mastitis is a most common infectious disease in dairy goat herds. The present study aims to identify the major bacterial pathogens and risk factors associated to goat and sheep mastitis, as well as to determine its susceptibility to antimicrobial drugs and plants extracts, also to evaluate the agreement between two different diagnostic tools. To the study 25 goat and sheep farms were visit in Pernambuco and Bahia state and collected 439 goats and 76 sheep milk samples. To mastitis diagnose were performed milk bacteriologic culture and California Mastitis Test (CMT). Antimicrobial drug-resistance patterns were determined by disk diffusion method in all positive samples. In order to determine the bactericidal activity of extracts from caatinga biome plants we used six ethanolic extracts including: *Encholirium spectabile* Mart., *Bromelia laciniosa* Mart., *Neoglaziovia variegata* Mez., *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C.Smith, *Hymenaea courbaril* L., and *Selaginella convoluta* Spring. Coagulase-negative *Staphylococcus* spp. is the most frequent isolated pathogen. The bacterial isolates showed high sensitivity to antimicrobial drugs. Related to indirect diagnosis of goat mastitis, the sensitivity of CMT test was 23.8% and specificity reached 96.8%, but when tested in sheep mastitis the sensitivity was 21.3% and specificity of 96.2%. The highest inhibitory activity was determined to *Amburana cearensis* and *Hymenaea courbaril* extracts. Considering the low cost of phytoterapy and the activity of caatinga biome plant extracts, further studies are required in order to evaluation vivo activity and chemical characterization of these plants.

**Keywords:** goat, sheep, mastitis, etiology, epidemiology, diagnosis, control.

## Introdução

A caprino-ovinocultura brasileira dispõe de um expressivo rebanho, principalmente na região Nordeste do país, onde se encontram aproximadamente 90% e 55% dos caprinos e ovinos, respectivamente. O estado de Pernambuco apresenta o 3º maior efetivo destes pequenos ruminantes no nordeste do país (IBGE, 2009).

A elevada adaptabilidade destes animais às condições edafoclimáticas da região, além da baixa necessidade de capital inicial, torna a criação destes pequenos ruminantes uma alternativa viável para a geração de renda e garantia de segurança alimentar para a população nordestina, principalmente aquela localizada em áreas semi-áridas (Holanda Junior & Araújo, 2004).

Dentre os principais sistemas de produção, aqueles voltados para subsistência, geralmente pequenos criatórios, são encontrados tanto nas áreas rurais quanto nas periferias das grandes cidades. Por outro lado, existem também criatórios comerciais bem organizados, com grandes estruturas de produção e, na maioria das vezes, dedicando-se também ao beneficiamento e comercialização dos produtos (Ribeiro, 1997).

Existe uma grande variedade de produtos oriundos destes pequenos ruminantes: carne, leite, couro, pêlo e esterco. A cadeia produtiva de caprinos na região Nordeste é voltada basicamente para o mercado da carne e pele. Por outro lado, na região Centro – Sul e em algumas áreas do NE, observa-se uma cadeia voltada para a produção de leite com criatórios mais tecnificados e com altos índices de produtividade (Ribeiro, 1997).

Na região NE, a falta de organização dos criadores, de assistência técnica especializada, além da precariedade do manejo higiênico-sanitário, são alguns dos entraves que impedem o crescimento da atividade. Os problemas sanitários, nutricionais e de manejo em geral, limitam o potencial produtivo dos animais (Vieira et al., 1998).

Dentre os principais problemas sanitários, destaca-se a mastite, uma inflamação da glândula mamária ocasionada, geralmente, por microorganismos. A mastite em pequenos ruminantes constitui um sério problema, tanto pela redução na produtividade, como pelos riscos a saúde pública (Contreras et al., 2007). Dentre as

formas de mastite, a mastite clínica é facilmente diagnosticada por alterações no leite e no úbere (Ladeira, 1998; Anderson et al., 2004). No entanto, a forma mais relacionada aos prejuízos é a mastite subclínica, que não pode ser diagnosticada pela observação visual da fêmea ou do leite e sim pela presença de elevadas contagens de células somáticas (CCS) no leite (Watts et al., 1988).

A prevalência da mastite de um rebanho é afetada tanto pela taxa de novas infecções como pela duração das mesmas. Torna-se importante enfatizar a natureza multifatorial da mastite, pois muitas variáveis influenciam o nível de infecção, tais como: o animal, o ambiente de ordenha, os microorganismos, as práticas de manejo, defeitos nos equipamentos e a ação do homem (Watts, 1988; Rasmussen & Madsen, 2000; Waage et al., 2001). Salienta-se que animais criados em locais com más condições sanitárias são expostos continuamente às condições estressantes, o que afeta de forma significativa seu desempenho produtivo. Em tais condições, além da maior exposição aos patógenos, há um comprometimento da capacidade de resistência do animal (Fonseca & Santos, 2001).

O diagnóstico da mastite nem sempre é fácil, sendo observado que na mastite clínica, embora o diagnóstico envolva os sinais clínicos característicos da enfermidade como dor e edema na metade mamária afetada, esta pode estar latente. Da mesma forma, o diagnóstico da mastite subclínica é bastante complicado e envolve a detecção de células somáticas e o cultivo bacteriano (Klaas et al., 2004). Células somáticas nada mais são que células epiteliais de descamação e leucócitos de origem sanguínea que se deslocam para glândula mamária a fim de combater a infecção existente. Assim, altas contagens de células somáticas indicam a presença de mastite. Vários testes podem ser utilizados para determinar a presença de células somáticas no leite, tais como o CMT (California Mastitis Test), o WMT (Wisconsin Mastitis Test) e a CECS (Contagem eletrônica de células somáticas) (Schroder & Hamman, 2005). O CMT é a melhor técnica para detecção da mastite subclínica em ovinos a campo (Clements et al., 2003). O diagnóstico bacteriológico é uma técnica simples, entretanto, exige pessoal treinado para coleta das amostras e laboratório para a identificação dos agentes etiológicos (Buswell, 1995).

A terapia das mastites subclínicas, causadas principalmente por estafilococos e estreptococos, durante a lactação apresenta resultados variáveis quanto ao sucesso das terapias (Berry et al., 1997, Pengov & Ceru, 2003). Os índices de recuperação da glândula variam entre 3,6% e 92%. Esquemas terapêuticos

utilizados para tratamento de mastites clínicas ou subclínicas recomendam entre uma e três aplicações medicamentosas, por via intramamária, apresentando melhores resultados quando o número de aplicações é maior ou quando se faz uma terapia associada por via parenteral. No tratamento das mastites subclínicas devem ser levados em consideração o custo, o tempo de eliminação dos antibióticos e a perda de leite (Erskine, 1992; Wilson et al., 1999). A utilização de antimicrobianos constitui a principal forma de tratamento de casos de mastite na propriedade. No entanto, o alto custo e a resistência bacteriana a esses compostos vêm levando os pesquisadores à busca de novas alternativas para o controle dessa enfermidade (Loguercio et al., 2006).

A partir de 1950, quando os antibióticos passaram a ser amplamente utilizados, iniciou-se a seleção de bactérias resistentes. As infecções intramamárias, além de contribuírem com significativas perdas econômicas, podem ser consideradas um sério problema para a saúde pública. Quanto aos programas de controle, estes têm o objetivo de diminuir a prevalência da doença para níveis aceitáveis, uma vez que sua erradicação não é viável. Entre as medidas recomendadas para o controle das mastites produzidas pela maioria dos organismos incluem-se as medidas higiênicas (Barlett et al., 1992).

Neste contexto, a busca por tratamentos a base de fitoterápicos intensificou-se nas últimas décadas (Agra et al., 2005). O Brasil apresenta uma extensa e diversificada flora, sendo grande o número de pesquisadores que têm contribuído para o enriquecimento da literatura acerca dos produtos naturais de plantas. No entanto, nosso país não tem uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente. A fabricação da maioria dos fitoterápicos pela indústria brasileira está fundamentada somente no uso popular das plantas, sem nenhuma comprovação pré-clínica nem clínica, não sendo observada uma política definida e comprometida com a fitofarmacêutica. Além disso, há necessidade de integração das diferentes áreas do conhecimento (química, bioquímica, farmacologia, botânica, tecnologia farmacêutica, etc.) para obtenção de resultados efetivos, uma vez que os estudos ocorrem de forma isolada ou fragmentada na determinação de novas estruturas ou novos efeitos biofarmacológicos, carecendo de conexão à obtenção de extratos ativos, como possíveis fitoterápicos (Yunis et al., 2001).

Atualmente, as vantagens que justificam a utilização dos fitoterápicos, são: o efeito sinérgico, ou seja, as plantas apresentam vários compostos com efeitos similares; associação de mecanismos por compostos agindo em alvos moleculares diferentes; menores riscos de efeitos colaterais, uma vez que os compostos ativos se apresentam em concentrações reduzidas nas plantas e; menores custos de pesquisa e produção (Yunis et al., 2001).

Neste sentido, é de fundamental importância o conhecimento dos agentes e fatores associados com a mastite em ovinos e caprinos da região semi-árida, com ênfase no Vale do Submédio São Francisco, bem como a determinação de sua sensibilidade aos agentes antimicrobianos a fim de permitir o estabelecimento de uma específica e planejada terapia com mais chances de sucesso. Além disso, faz-se necessária a continuidade dos estudos acerca das alternativas para o controle da mastite, destacando-se o potencial do extrato etanólico de plantas da flora do semi-árido nordestino contra os agentes causadores da mastite em ruminantes, visando subsidiar pesquisas para aplicação na terapia dos animais.

# **CAPÍTULO 1**

**Mastite em pequenos ruminantes no Brasil**

**(A ser submetido, como artigo de revisão, à Pesquisa Veterinária Brasileira)**

## Mastite em pequenos ruminantes no Brasil<sup>1</sup>

Rodolfo de M. Peixoto<sup>2</sup>, Mateus M. da Costa<sup>3\*</sup>

**ABSTRACT.-** Peixoto R.M. & Costa M.M. 2009. **[Small Ruminant Mastitis in Brazil.]** Mastite em pequenos ruminantes no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(00):00-00. Campus Ciências Agrárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rod. BR 407, Km 12, Lote 543. Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, s/n. Petrolina, PE 56300-990, Brazil. E-mail: [mateus.costa@univasf.edu.br](mailto:mateus.costa@univasf.edu.br)

The present study aims to perform a review with reference to mastitis in small ruminants, focusing important aspects of etiology, epidemiology, diagnose, control, and prophylaxis methods. We have the concern about Brazilian data, because the mastitis results of many factors in combination as environment and management conditions that are necessary for developing of etiological agents and epidemiology of this relevant disease. The prevalence of goat mastitis varies from 22 to 75%, being subclinical cases the most frequent. In Brazil there are few studies about epidemiologic aspects of mastitis in small ruminants. In the other hand, the disease has growing in importance in animals used to produce meat, mainly in sheep. The staphylococci mastitis is the most prevalent in small ruminants. The zoonotic importance of some milk pathogens such as *Staphylococcus aureus* emphasizes the importance of the elimination this bacteria by carriers between goat and sheep milk farms. Some diagnostic techniques need more standardization, especially those used to goat species that have showed some particularities. Mastitis control strategies will be discussed include the management of the females and their offspring, milking proceeds and vaccination protocols.

INDEX TERMS: goat, sheep, mastitis, etiology, epidemiology, diagnosis, control.

---

<sup>1</sup> Recebido em      de      de 2009.

Aceito para publicação em      de      2009.

<sup>2</sup> Mestrando do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Campus Ciências Agrárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rod. BR 407, Km 12, Lote 543. Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, s/n. Petrolina, PE 56300-990, Brazil.

<sup>3</sup> Campus Ciências Agrárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rod. BR 407, Km 12, Lote 543. Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, s/n. Petrolina, PE 56300-990, Brazil. \*Autor para correspondência: [mateus.costa@univasf.edu.br](mailto:mateus.costa@univasf.edu.br)

**RESUMO.-** Este artigo objetivou revisar as informações recentes acerca da mastite em pequenos ruminantes, apontando a etiologia, epidemiologia, aspectos de controle e profilaxia. Houve a preocupação em reunir resultados de estudos desenvolvidos no Brasil, uma vez que a mastite tem a interferência de uma série de fatores, entre eles, fatores ambientais e outros decorrentes dos sistemas de manejo empregados, condições estas determinantes para etiologia e epidemiologia da enfermidade. A prevalência da mastite em caprinos varia entre 22 e 75%, sendo que os casos de mastite subclínica são os mais frequentes. Existe uma carência de trabalhos voltados para os aspectos epidemiológicos da enfermidade no nosso país. Contudo, observa-se que a mastite vem assumindo cada vez mais importância nos rebanhos voltados para produção de carne, sendo encontrados resultados de pesquisa, principalmente na espécie ovina. A mastite estafilocócica corresponde à maior fração nas infecções intramamárias em pequenos ruminantes. O caráter zoonótico de alguns patógenos, a exemplo do *Staphylococcus aureus* ressalta a importância da implantação de programas de controle em propriedades leiteiras. Algumas das ferramentas de diagnóstico ainda necessitam de padronização, principalmente para espécie caprina que apresenta uma série de particularidades. Ainda são discutidas as principais estratégias de controle como o manejo de fêmeas e suas crias, os procedimentos de ordenha e a utilização de vacinas.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** caprino, ovino, mastite, etiologia, epidemiologia, diagnóstico, controle.

## **1. Introdução**

A mastite é uma das enfermidades de maior ocorrência em rebanhos leiteiros. A etiologia é ampla, sendo a enfermidade ocasionada primordialmente por microorganismos (Anderson et al. 2004). Várias são as perdas decorrentes da presença da doença nos rebanhos, principalmente, devido à redução acentuada da produção de leite, gastos com medicamentos, honorários veterinários, além do descarte de animais. Na literatura internacional, diversos artigos tratam de tal enfermidade, sendo o tema amplamente revisado por Bergonier et al. (2003) e Contreras et al. (2007). No entanto, ainda não foram compilados dados acerca desta doença no Brasil. Dessa forma, objetiva-se revisar os conhecimentos acerca da mastite em pequenos ruminantes, com destaque para a etiologia e epidemiologia da doença no Brasil.

## **2. Mastite em pequenos ruminantes: etiologia e epidemiologia**

A prevalência anual da mastite é influenciada por uma série de fatores, relacionados ao animal, patógeno e ao meio ambiente. Levantamentos de pesquisa demonstram que a mastite do tipo subclínica é a que mais predomina nos rebanhos de pequenos ruminantes, cuja prevalência estimada está entre 5-30%, podendo ser ainda maior. Em contrapartida, a mastite com evidências clínicas apresenta-se em níveis abaixo de 5%, podendo alcançar maiores taxas em determinadas situações. Contudo, dados a respeito da prevalência da mastite em caprinos e ovinos ainda são escassos (Contreras et al. 2007).

No Brasil, destacam-se as variações dos dados acerca da prevalência da mastite em caprinos e ovinos. Em criações leiteiras, a frequência de mastite subclínica pode oscilar entre 22% e 75% (Lima Júnior et al. 1995). Na região Nordeste, sinais clínicos desta enfermidade foram relatados em 51,2% dos rebanhos (Pinheiro et al. 2000). No estado do Rio Grande do Sul, 30,8% de metades mamárias avaliadas foram positivas para mastite subclínica (Muricy 2003). A mastite em pequenos ruminantes ocorre durante todo ano, não havendo variação sazonal da doença. Contudo, podem-se observar maiores índices de prevalência em propriedades com maior produção leiteira ou em períodos chuvosos, em decorrência do aumento no número de vetores (Pinheiro et al. 2000, Albizu & Baselga 2002).

Os principais micro-organismos isolados de casos de mastite em caprinos e ovinos no Brasil são os *Staphylococcus* spp. (Mota et al. 2000, Coutinho et al. 2006, Domingues et al. 2006, Langoni et al. 2006, Almeida 2009, Bolsanello et al., 2009) (Quadro 1). Uma das principais características da mastite diz respeito à diversidade de agentes com potencial patogênico. Dentre estes, destacam-se os *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN), que para outras espécies animais são considerados patógenos menores. Têm-se ainda as bactérias do gênero *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Mannheimia haemolytica* e algumas espécies de fungos, porém são menos frequentes (Bergonier & Berthelot 2003, Gonzalo et al. 2004, Contreras et al. 2007). Alguns estudos com infecção experimental vêm demonstrando o potencial patogênico de alguns micro-organismos relevantes, a exemplo do *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que é responsável pelo desencadeamento da enfermidade e pela manifestação de quadros agudos, acompanhados de alterações no leucograma (Pinheiro Junior et al. 2006).

Dentre as espécies de SCN mais prevalentes, tem-se em ordem decrescente de importância: *S. epidermidis*, *S. xylosus*, *S. chromogenes* e *S. simulans*, como as espécies com maior frequência de isolamento em ovelhas. Com relação à espécie caprina, pesquisas demonstram maior ocorrência de *S. caprae*. Entre as espécies de SCN, *S. epidermidis* está associada, na maioria das vezes, com elevadas contagens de células somáticas (CCS) em ovelhas e cabras, não sendo o mesmo fato observado para o *S. caprae* (Bergonier et al. 2003). Alguns trabalhos têm demonstrado que a produção de leucotoxinas por SCN é nula ou ocorre em pouca quantidade, ao contrário de *S. aureus* que produz várias leucotoxinas. Segundo Rainard et al. (2003), *S. aureus* obtidos de caprinos e ovinos são mais leucotóxicos que aqueles obtidos de bovinos. Entretanto, estes mesmos autores observaram que os leucócitos polimorfonucleares dos pequenos ruminantes são mais resistentes aos efeitos leucotóxicos quando comparados aos dos bovinos.

O isolamento de SCN geralmente está associado à ausência de sinais clínicos evidentes. Contudo, podem causar infecções persistentes, as quais resultam em maiores CSS, tendo como principal consequência a diminuição da qualidade do leite. Além disso, o surgimento da resistência antimicrobiana é mais comum entre as espécies de SCN, que também podem causar injúrias ao tecido mamário ocasionando queda da produção de leite (Contreras et al. 1997, Ariznabarreta et al. 2002, Taponen & Pyörälä 2009). Embora os SCN sejam considerados patógenos

maiores da mastite em pequenos ruminantes, os mecanismos de patogenicidade nos quadros subclínicos da enfermidade ainda são desconhecidos (Contreras et al. 2007). Recentemente, Leitner et al. (2009) relataram a ocorrência de um surto de mastite subclínica por SCN atípico, enfatizando a necessidade do desenvolvimento de técnicas moleculares para rápida identificação destes patógenos, objetivando facilitar o seu controle. O uso de técnicas moleculares para identificação de SCN é sugerido também por Pyörälä & Taponen (2009), visto que os métodos fenotípicos não são suficientemente confiáveis.

Alguns trabalhos evidenciam maior incidência de *S. aureus* em rebanhos de cabras leiteiras em contraste com a presença dos SCN. Nestes casos, têm-se quadros mais severos de mastite (Ameh & Tari 2000). Santos et al. (2007) estudaram os aspectos clínicos e características do leite de ovelhas com mastite induzida experimentalmente com a inoculação de *S. aureus*, sendo observado um quadro de mastite com evolução aguda dos sintomas em todas as ovelhas, sendo o tratamento empregado (antimicrobiano intramamário e sistêmico, além de anti-inflamatório não esteróide) eficiente na recuperação dos animais. Contudo, o dano causado às glândulas mamárias não foi revertido. *S. aureus* destaca-se como agente causador da mastite do tipo contagiosa, sendo seu tratamento difícil devido à elevada resistência (Fagundes & Oliveira 2004). As enterotoxinas produzidas por este micro-organismo pertencem a uma grande família de toxinas produzidas por dois gêneros bacterianos: *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Em seres humanos, estas toxinas estão associadas com quadros de choque tóxico, além de intoxicações alimentares, diversas formas de alergias e doenças autoimunes (Balaban & Rasooly 2000).

O leite e seus derivados desempenham um papel nutricional importante para o homem. A qualidade do leite assume destacada importância sob o ponto de vista da Saúde Pública, pois, embora não existam estatísticas disponíveis sobre o assunto, são frequentes os casos de doenças associadas ao consumo de leite cru ou de derivados produzidos com leite contaminado com micro-organismos patogênicos (Fagundes & Oliveira 2004). É evidente a importância de *S. aureus* para a saúde pública, principalmente no que se refere às suas exotoxinas. Vários trabalhos foram realizados sobre este micro-organismo, contudo outros estudos são necessários para se compreender melhor o envolvimento desta bactéria na etiologia

de doenças que acometem humanos e animais, desde o tecido cutâneo até infecções sistêmicas (Fagundes & Oliveira 2004, Freitas et al. 2004).

A produção de enterotoxinas não está restrita à espécie *S. aureus*, visto que alguns estudos têm evidenciado espécies de SCN com potencial para produção de toxinas em condições laboratoriais, tais como: *S. xylosum*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. chromogenes*, *S. warneri*, *S. sciuri* e *S. lentus* (Pereira et al. 2001). No que se refere à possibilidade de eliminação das toxinas estafilocócicas dos alimentos contaminados, não existem dados que atestem a inativação eficiente das mesmas por meio dos processos usuais de pasteurização ou esterilização industrial do leite e derivados. Sendo assim, a presença de *S. aureus* no leite constitui um sério problema de saúde pública (Fagundes & Oliveira 2004).

Silva et al. (2005b) observaram a produção de hemolisinas por bactérias do gênero *Staphylococcus* isoladas de casos de mastite em rebanhos de caprinos leiteiros no Brasil, do total de isolados analisados, 80% demonstraram atividade hemolítica. Entre os SCN obtidos, 65,2% produziram alfa-hemolisina, 19% beta-hemolisina e 83,3% delta-hemolisina de forma isolada ou combinada. Todas as espécies de *S. aureus* apresentaram atividade hemolítica para todos os tipos de hemolisinas pesquisadas de forma isolada ou combinada. Estes autores observaram ainda, que a glândula mamária de cabras constitui um reservatório em potencial para *Staphylococcus* spp. hemolíticos.

No Brasil, os estudos com epidemiologia molecular, envolvendo *S. aureus* isolados de caprinos e ovinos ainda são escassos (Aires-de-Sousa et al. 2007). Estes autores caracterizaram *S. aureus* isolados de casos de mastite subclínica nas espécies bovina, bubalina, caprina e ovina de diferentes municípios do estado do Rio de Janeiro. Estes estudos demonstraram que apenas um clone foi responsável pela maioria dos casos de mastite subclínica em várias regiões do estado do Rio de Janeiro. Além disso, observou-se que este clone não apresenta hospedeiros específicos, tendo a capacidade de colonizar e causar infecção nas diferentes espécies animais.

Estudo visando a detecção de genes codificadores de enterotoxinas A, B e C em isolados de *S. aureus* obtidos de amostras de leite de rebanhos caprino e bovino no Brasil, demonstrou que os isolados de *S. aureus* provenientes do leite de cabras com mastite, tiveram um alto potencial enteropatogênico superior àqueles obtidos de

bovinos, além disso, sugere-se que os *S. aureus* produtores de enterotoxinas tipo C são os principais envolvidos na patogenia da mastite em cabras (Silva et al. 2005c).

A frequência de mastite causada por coliformes varia entre os diferentes países. A mastite causada por *Escherichia coli* pode ser esporádica e os sinais clínicos podem ser localizados ou resultarem em sintomas clínicos severos com episódios fatais (Santos 2006). Shpigel et al. (2008) sugerem que os isolados de *E. coli* obtidos de casos de mastite podem formar um novo patótipo – “mammary pathogenic *E. coli*” (MPEC) em virtude da semelhança entre as cepas obtidas de casos de mastite.

O desencadeamento da mastite está vinculado à complexa tríade – animal, agente etiológico e meio ambiente. Os fatores determinantes que influenciam na susceptibilidade à mastite incluem: resistência natural da glândula mamária, estágio da lactação, hereditariedade, idade do animal, espécie, infectividade e patogenicidade do agente (Prestes et al. 2002).

Dentre os principais fatores determinantes, destaca-se que no período de lactação há maior susceptibilidade do animal quanto à mastite do tipo contagiosa, enquanto que no período seco, observa-se maior frequência da mastite ambiental (Prestes et al. 2002). A fase de desmame proporciona uma série de mudanças no tecido mamário, dando-se início ao período de involução mamária. No Brasil, estudo de campo demonstrou que o período de involução ativa não representa um período crítico para o surgimento de infecções intramamárias em ovinos Santa Inês (Blagitz et al. 2008), embora o inverso já tenha sido observado (Saratsis et al. 1998). Quanto à idade, Al-Majali & Jawabreh (2003) observaram que animais mais velhos apresentam maior susceptibilidade à infecção devido às sucessivas mudanças do tecido mamário.

Em ovinos, a presença da *Mannheimia haemolytica* na cavidade oral e faringiana dos cordeiros assume grande importância, havendo a transmissão por contato direto durante o ato de mamar (Vaz 1996). Na espécie caprina, o contágio vertical é mais difícil de ocorrer, e o surgimento da mastite é favorecido pelos fatores que intervêm na transmissão horizontal dos patógenos. Tal fato está relacionado às particularidades de defesa da glândula mamária caprina, que proporciona maior resistência às infecções ambientais, devido ao maior percentual de polimorfonucleares neutrófilos (Paape & Capuco 1997).

A agalaxia contagiosa em ovinos e caprinos causa redução abrupta da produção de leite, além de desencadear um aumento significativo da contagem de células somáticas (CCS), sendo considerada uma importante causa de mastite em áreas endêmicas (Corrales et al. 2004). Azevedo et al. (2006) relataram o primeiro surto de agalaxia contagiosa por *Mycoplasma agalactiae* em pequenos ruminantes no Brasil. O surto aconteceu na região Nordeste, sendo observado um quadro de mastite, agalaxia e poliartrite em cabras, contudo, a origem da doença não foi conhecida. Os autores discutem que a enfermidade foi introduzida no Brasil por meio da importação de animais infectados visando à melhoria dos índices de produção leiteira.

Os lentivírus também são conhecidos como agentes infecciosos para cabras e ovelhas, porém em decorrência do elevado número de animais assintomáticos, estes agentes não são considerados como patógenos clássicos das infecções intramamárias nos pequenos ruminantes (Turin et al. 2005). A prevalência é maior em rebanhos leiteiros e os sinais clínicos são mais evidentes em animais velhos (Callado et al. 2001). Birgel Junior et al. (2007) analisaram a influência da infecção pelo vírus da “Caprine arthritis encephalitis” (CAE) nas características físico-químicas e celulares do leite de caprinos, sendo evidenciada uma significativa influência da infecção pelo vírus da CAE na composição do leite, com os valores de eletrocondutividade, teores de cloretos e a CCS, sendo maiores nas cabras infectadas.

Moroni et al. (2005) realizaram um estudo sobre os fatores de risco para as infecções intramamárias em rebanhos de cabras leiteiras, sendo observado que a mastite foi mais frequente entre as fêmeas de terceira e quarta ordem de parto, e quanto ao estágio de lactação, observou-se maior positividade para animais que estavam há vários dias em lactação. Ameh & Tari (2000), também estudando os fatores predisponentes para mastite caprina, encontraram uma associação positiva entre a mastite e a presença de ferimentos na teta, porém não foram encontradas associações entre o diâmetro da teta, distância entre a teta e o solo e a prevalência de mastite.

**Quadro 1. Percentual dos principais microorganismos isolados de casos de mastite em pequenos ruminantes no Brasil**

Micro-organismo	CAPRINA				OVINA			
	Mota et al. (2000)	Silva et al. (2004)	Langoni et al. (2006)	Almeida (2009)	Coutinho et al. (2006)	Domingues et al. (2006)	Blagitz et al. (2008)	Bolsanello et al. (2009)
<i>Staphylococcus</i> spp.	76,3	10,0	-	73,3	-	-	-	-
SCN*	-	60,0	-	-	57,6	67,9	100,0	61,1
<i>S. warneri</i>	-	12,8	-	-	-	-	-	-
<i>S. caprae</i>	-	10,0	-	-	-	-	-	-
<i>S. sciuri</i>	-	7,1	-	-	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	-	50,0	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	40,0	11,4	-	15,2	9,4	-	-
<i>Streptococcus</i> sp.	1,7	-	-	5,9	15,2	13,2	-	16,6
<i>S. agalactiae</i>	-	-	13,6	-	3,0	-	-	-
<i>Micrococcus</i> sp.	-	-	-	-	12,0	-	-	-
<i>Corynebacterium</i> spp.	1,7	-	-	-	-	5,7	-	5,5
<i>Corynebacterium bovis</i>	-	-	8,6	-	-	-	-	-
<i>Bacillus</i> spp.	3,4	-	2,8	-	-	-	-	13,8
<i>Pasteurella multocida</i>	-	-	4,6	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp.	-	-	-	2,9	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	1,8	1,9	-	-	-	-
<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	1,9	-	-	-	-
<i>Serratia</i> spp.	1,7	-	-	-	-	-	-	2,7

\*SCN = *Staphylococcus coagulase negativa*

### 3. Técnicas de diagnóstico da mastite em pequenos ruminantes

O diagnóstico da mastite pode ser efetuado utilizando-se métodos diretos e indiretos. Os exames diretos baseiam-se na identificação do agente etiológico, mediante a demonstração da presença de micro-organismos nas amostras de leite encaminhadas aos laboratórios. Por outro lado, os testes indiretos se fundamentam em vários critérios de evolução de intensidade da reação inflamatória (Mota 2008).

Nas formas agudas e crônicas, o diagnóstico é realizado considerando-se os sinais clínicos, onde no primeiro caso, observa-se o aparecimento súbito de febre (40° a 42°C), perda de apetite, apatia, dispnéia e relutância em se locomoverem. Nos casos de mastite gangrenosa, o úbere apresenta coloração azulada e com aspecto edematoso (Anderson 2004, Mota 2008). Contudo, o exame físico não deve ser utilizado como método diagnóstico de forma isolada, sendo imprescindível a associação com outras técnicas diagnósticas, como a lactocultura (Nunes et al. 2008).

A cultura bacteriológica do leite é considerada o teste padrão ouro para o diagnóstico das infecções intramamárias em espécies leiteiras. Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos objetivando alcançar maiores taxas de recuperação de patógenos em amostras de leite contaminadas (Contreras et al. 2007). Com relação à influência do tempo de coleta no diagnóstico bacteriológico de infecções intramamárias, Sánchez et al. (2004) observaram que a especificidade da lactocultura realizada após a ordenha foi de 99,4%, 99,9%, 100%, 99,9% e 100% para o isolamento de SCN, bacilos gram-negativos, *Streptococcus* spp., corinebactérias e culturas mistas, respectivamente, sendo sugerido que a coleta de amostras de leite após a ordenha pode ser um procedimento eficiente para o diagnóstico de infecções intramamárias.

Com relação ao efeito do congelamento, observou-se que esta prática afeta positivamente a recuperação de patógenos em amostras de leite, podendo ser adotada em programas de controle da mastite subclínica caprina, em decorrência do incremento no número de isolamento de *Staphylococcus* coagulase negativa (Sánchez et al. 2003). Sierra et al. (2006) estudaram o efeito da temperatura sobre a contagem eletrônica de células somáticas, não constatando diferenças nas temperaturas de 40 e 60°C.

Estudo envolvendo análise bacteriológica e hematológica em caprinos com mastite subclínica verificou que os índices eritrocitários de cabras com mastite foram significativamente menores do que aqueles de cabras com a enfermidade (Ajuwape et al. 2005). Por outro lado, estes autores observaram que as contagens totais e diferenças de leucócitos em cabras com mastite foram significativamente maiores do que o observado em fêmeas sem a doença, demonstrando que o hemograma pode auxiliar os clínicos na previsão do prognóstico de animais com mastite.

A contagem de células somáticas (CCS) constitui a base das técnicas de diagnóstico indireto das mastites em todas as espécies de ruminantes leiteiros (Mota 2008). Assim, CCS é amplamente utilizada para avaliação do *status* sanitário da glândula mamária em cabras e ovelhas (McDougall et al. 2001). A maioria das diferenças entre caprinos e ovinos que afetam o diagnóstico da mastite é relatada para CCS. Estas diferenças são, principalmente, em virtude da alta CCS em cabras não infectadas, o alto componente apócrino na secreção do leite e o elevado número de fatores não infecciosos que podem incrementar a contagem de células somáticas em cabras quando comparado com ovelhas (Paape et al. 2001). Vários trabalhos têm sido realizados na tentativa de estabelecer a CCS de cabras não infectadas, mas a comparação dos resultados constitui uma tarefa árdua, em decorrência da quantidade de fatores biológicos e instrumentais que podem interferir neste parâmetro (Andrade et al. 2001).

A microscopia direta com azul de metileno constitui o método padrão para a contagem de células (IDF 1995), embora possa superestimar a CCS em leite de cabra (Paape et al. 2001). Ainda com relação a esta espécie, os estudos são divergentes quanto à utilização do *Somacount* 300 (Bentley Instruments Incorporated, Minnesota, EUA) calibrado para espécie bovina, sendo encontrada tanto correlação positiva com a microscopia direta (Andrade et al. 2001), quanto o inverso, com superestimação da CCS (Zeng 1996).

De forma geral, os testes indiretos necessitam de padronização para a espécie caprina. O *Wisconsin Mastitis Test* tem subestimado a CCS, necessitando de ajustes para fêmeas caprinas (Andrade et al. 2001). O *California Mastitis Test* (CMT) é outro método indireto, sendo a prova eleita para o diagnóstico das mastites subclínicas pela facilidade de execução, baixo custo e por permitir um resultado satisfatório acerca da situação da mastite em rebanhos leiteiros (Mota 2008). Em decorrência do maior número de células somáticas no leite de fêmeas caprinas,

estudos apontam uma maior confiabilidade do CMT quanto à sua sensibilidade a partir do nível de 2+. Os escores (traços e 1+) devem ser interpretados como negativos (Santos et al. 1995, Contreras et al. 1996, Bezerra et al. 2006, Almeida 2009). Contudo, a existência de concordância entre o escore “traços” e a positividade na lactocultura em algumas situações, denota a importância de se considerar qualquer grau de reatividade ao CMT, principalmente quando se pretende realizar a triagem de casos de mastite subclínica em cabras (Tonin & Nader Filho 2005).

A utilização da CCS ainda não está bem estabelecida no diagnóstico da mastite caprina. Trabalhos desenvolvidos no Brasil têm mostrado que os valores máximos, mínimos e médios de CCS são bem próximos, sendo encontrados valores elevados de CCS tanto na presença, como ausência de crescimento bacteriano (Quadro 2) (Santos et al. 2004, Vilanova et al. 2008). Silva et al. (2001) estudaram a associação entre o CMT e a CCS objetivando a avaliação da saúde da glândula mamária caprina, sendo observada uma correlação positiva entre estes dois testes. Porém, foram observadas elevadas contagens de células em amostras negativas à lactocultura, denotando que o CMT pode ser usado como teste de triagem no diagnóstico da mastite, porém, devendo-se sempre associá-lo ao exame microbiológico.

Sugere-se que a CCS pode ser utilizada para a detecção da mastite caprina, devendo-se utilizar contagens superiores a  $1,0 \times 10^6$  células/mL de leite como critério para a realização de exames microbiológicos (Paes et al. 2003). Pessoa et al. (1999) estudaram o limiar de células somáticas no leite de cabras em Pernambuco, sendo observada uma alta similaridade entre a cultura positiva e escores  $\geq 1.000.000$  cél./mL na CCS. Estudos realizados no Brasil vêm demonstrando que a variação da CCS no leite de cabras ocorre em função de uma série de fatores, entre eles, o estágio de lactação e ordem de parto, época do ano e tipo de ordenha. Os estágios finais da lactação e fêmeas com maior número de parições são situações que determinam contagens mais elevadas, devendo-se ter cautela durante a avaliação da saúde da glândula mamária nestes casos (Silva et al. 1999, Silva et al. 2005a, Gomes et al. 2006, Souza et al. 2009).

Em ovelhas da raça Bergamácia, estudo avaliando o efeito da mastite sobre a CCS mostrou que as amostras de leite provenientes de glândulas mamárias sadias revelam valores entre 1000 e 816.000 células/mL, com média correspondente a

36.285 células/mL. Por outro lado, a partir dos escores 1+, 2+ e 3+ obtidos no CMT, tem-se obtido as seguintes médias correspondentes na CCS: 70.600, 288.714 e 653.285 células/mL, respectivamente, ressaltando a importância da utilização destes métodos no diagnóstico da mastite ovina (Hartman et al. 2009).

Leitner et al. (2008) avaliaram as perdas de rendimento de leite de cabras e ovelhas com infecção intramamária e sua relação com a CCS, sendo sugerida a seguinte classificação: Alta qualidade do leite < 800.000 CCS/mL, associada com infecção de aproximadamente 25%; Média qualidade do leite < 1.500.000 CCS/mL, associada com infecção entre 25 e 50%; Baixa qualidade do leite > 1.500.000 CCS/mL, associada com taxa de infecção acima de 50%.

A contagem de células somáticas é uma boa ferramenta para monitorar a qualidade do leite de ovelhas e cabras, mas é necessário o estabelecimento de critérios para estas duas espécies. Além disso, novos estudos são necessários visando considerar os muitos fatores que podem interferir na CCS, e que são distintos daqueles que influenciam o mesmo parâmetro no leite de vacas (Raynal-Ljutovac et al. 2007).

Além destes métodos, tem-se a disposição outras ferramentas como: análise das variações da composição do leite, que se baseia na medição dos íons mediante condutividade elétrica e outros parâmetros como lactose, análise de proteínas séricas e pesquisa de enzimas específicas indicadoras de lesão do tecido mamário (Mota 2008). Quanto aos principais indicadores inflamatórios utilizados no diagnóstico da mastite ovina, têm-se maiores valores preditivos para a CCS, CMT e teor de cloreto. Por outro lado, o pH, o teor de lactose e o índice cloreto-lactose apresentam-se como marcadores inflamatórios menos sensíveis (Nunes et al., 2008).

**Quadro 2. Sensibilidade e/ou limiar de células somáticas de alguns métodos indiretos empregados no diagnóstico da mastite subclínica em caprinos criados em regiões do Brasil**

<b>Método</b>	Santos et al. (1995)	Pessoa et al. (1999)	Paes et al. (2003)	Santos et al. (2004)	Tonin & Nader Filho (2005)
<b>CMT (Se*)</b>					
Traços	-	-	-	-	57,6
1 +	73,52	-	-	-	48,5
2 +	70,58	-	-	59,2	37,9
3 +	24,24	-	-	-	27,3
<b>CCS (Limiar - cél/mL)</b>	-	≥ 1.000.000	≥ 1.000.000	≥ 500.000	-

\*Se = sensibilidade;

#### **4. Estratégias de controle e prevenção**

A higiene durante a ordenha constitui a base para o sucesso de um programa de controle das mastites em pequenos ruminantes. O manejo higiênico-sanitário voltado para prevenção da mastite engloba atenção especial ao ordenhador, ao animal, à ordenhadeira e ao meio ambiente. O sucesso do tratamento da mastite envolve uma série de fatores incluindo a escolha do antimicrobiano, susceptibilidade do micro-organismo, duração do tratamento, dosagem empregada e o *status* imune do animal (Erskine et al. 1993).

Dentre as diversas fases do processo produtivo, o período seco representa uma fase de susceptibilidade a novas infecções. Em estudos com bovinos leiteiros, a terapia no período seco apresenta uma série de vantagens, sendo os índices de recuperação elevados (40-70%) (Nickerson 1993). No entanto, nos casos de mastite por *S. aureus* torna-se mais difícil a obtenção de bons resultados ao tratamento (Sears & McCarthy 2003). Em pequenos ruminantes, a terapia no período seco não constitui uma prática rotineira nas criações voltadas para produção de leite. Contudo, a terapia da mastite em ovelhas e cabras não-lactantes tem-se mostrado como uma ferramenta eficiente na redução das infecções intramamárias, proporcionando ganhos na produção de leite (Fox et al. 1992, Poutrel et al. 1997, Chaffer et al. 2003, Gonzalo et al. 2004). Neste sentido, o tratamento no período seco deverá ser recomendado para rebanhos com um elevado número de animais com mastite subclínica associado com altas CCS. O manejo adequado do rebanho, especialmente antes do parto e nos dias que se seguem, resulta em menores

índices de mastite, sem a necessidade de utilização dos antimicrobianos (Shwimmer et al. 2008).

Diferentemente das infecções por *S. aureus*, outras infecções estafilocócicas são mais facilmente tratadas e eliminadas. Além disso, a terapia no período seco pode eliminar 80% a 100% das infecções por *Staphylococcus* coagulase negativa, enquanto que a taxa de cura espontânea pode alcançar índices de até 73% (Harmon & Langlois 1989). Entretanto, tem-se observado o fenômeno da resistência antimicrobiana em muitos isolados de *Staphylococcus* coagulase negativa (Lollai et al. 2008, Taponen & Pyörälä 2009).

O uso de vacinas para o controle da mastite torna-se uma opção econômica para os veterinários e criadores, uma vez que reduz custos e tem efeitos positivos sobre a qualidade do leite e a saúde pública, já que diminui a necessidade do uso de antimicrobianos (Portes et al. 2006). Vacinas contra mastite clínica gangrenosa, que estão disponíveis no mercado de pequenos ruminantes, são amplamente usadas quando há uma alta prevalência da infecção. Contudo, devido os diferentes relatos sobre a efetividade destas vacinas para vacas leiteiras e ovelhas, e sua inabilidade para prevenir novas infecções, tem sido sugerido que as vacinas sejam usadas em rebanhos leiteiros com alta prevalência de *S. aureus* para reduzir os sinais clínicos (Contreras et al. 2007). A efetividade dos programas de vacinação contra mastite causada por *S. aureus* tem sido relatada para ovelhas, mas não para cabras (Amorena et al. 1994, Tollersrud et al. 2002). Atualmente, estudos com vacinação têm fracassado em desenvolver esta ferramenta para o controle da mastite em pequenos ruminantes, e mais estudos sobre imunização são necessários para melhorar esta estratégia (Contreras et al. 2007). Coelho et al. (2008) observaram uma redução no número de casos de mastite em cabras leiteiras, a partir da antibioticoterapia associada ao uso de vacina contra mastite estafilocócica.

Poucas drogas são especificamente licenciadas para uso em pequenos ruminantes, particularmente em cabras. O uso de antibióticos ou outras drogas de bovinos em pequenos ruminantes, ou até mesmo o uso de produtos em caprinos de produtos indicados para ovinos, constituem um alto risco devido à segurança e eficácia destes produtos em cada espécie serem em grande parte desconhecidos (Mavrogianni et al. 2004). Alguns trabalhos realizados no Brasil vêm demonstrando a presença de sensibilidade entre os diferentes patógenos isolados de casos de mastite em caprinos e ovinos (Silva et al. 2004, Coutinho et al. 2006, Almeida 2009),

principalmente para a gentamicina (Mota et al. 2000, Langoni et al. 2006, Domingues et al. 2006).

O tratamento com antibióticos deverá sempre ser acompanhado por um veterinário, no sentido de garantir a adequada e higiênica administração (Contreras et al. 2007). O uso excessivo de antibióticos pode aumentar o risco da resistência a estes medicamentos, fato que tem se tornado um problema de saúde pública. Goni et al. (2004) destacam que a detecção de cepas de *S. aureus* resistentes aos aminoglicosídeos deve ser considerada uma preocupação para saúde pública, dado ao mecanismo similar para cepas isoladas em humanos. Recentemente, Soares et al. (2008) demonstraram que isolados clínicos de SCN provenientes de amostras coletadas de animais e humanos têm apresentado elevada resistência à penicilina e à ampicilina.

A desinfecção da teta tem sido demonstrada como altamente eficaz na prevenção de novas infecções intramamárias em vacas por diferentes patógenos, especialmente CNS (Hogan et al. 1987). Em pequenos ruminantes, a desinfecção da teta após a ordenha tem sido usada, principalmente, em rebanhos altamente infectados (Paape et al. 2001, Bergonier & Berthelot 2003, Contreras et al. 2003), e esta tem se revelado como método muito eficaz para prevenir a mastite em pequenos ruminantes.

Os programas de controle implantados em fazendas de bovinos leiteiros não podem ser diretamente aplicados em fazendas de criação de pequenos ruminantes. Este fato ocorre devido às diferenças de tamanho dos rebanhos, uso de áreas marginais para criação destes animais, baixa renda dos produtores, o sistema particular de pastoreio, e outras particularidades fazem dos pequenos ruminantes espécies distintas dos bovinos leiteiros e requerem a designação de estratégias específicas para o controle da qualidade do leite (Contreras et al. 2007).

As ovelhas Santa Inês, diferentemente de outras raças especializadas para corte, apresentam longo período de lactação, aumentando a propensão na ocorrência da mastite (Melo et al. 2008). Estes autores avaliaram uma metodologia profilática contra a mastite clínica em ovelhas da raça Santa Inês, sendo observado que a utilização de antibióticos no momento do desmame e da secagem diminuiu a frequência de aparecimento dos sinais da mastite clínica.

A forma e a ordem com que as fêmeas são levadas até a sala de ordenha repercutem de forma significativa sobre a saúde da glândula mamária de todo

rebanho. A utilização da linha de ordenha e realização de inspeções diárias das glândulas mamárias e dos equipamentos de ordenha constituem práticas de manejo de grande relevância dentro de programas de controle da mastite em pequenos ruminantes (Mota 2008).

Da mesma forma, a situação epidemiológica de *S. aureus* em fêmeas lactantes é de difícil controle, pois os cordeiros ou cabritos infectados pelas mães podem transmitir a doença para outras fêmeas. Quanto às infecções por *M. haemolytica*, cordeiros constituem a principal fonte de disseminação da infecção. A utilização de colostro pasteurizado tem aumentado em criações modernas por razões produtivas e sanitárias, como o combate a infecção pelos lentivírus (Contreras et al. 2004), sendo uma prática de manejo que melhora o *status* sanitário de cordeiros e cabritos e ao úbere de suas mães, visto que permite a remoção das crias ao parto e o fornecimento de colostro e leite livre de patógenos (Contreras et al. 2007).

A suplementação com vitamina E é importante para a manutenção de alguns dos principais mecanismos de defesa animal, incluindo a produção de anticorpos, a proliferação celular, a produção de citocinas, o metabolismo da prostaglandina e as funções dos neutrófilos (Hogan et al. 1993). Estudo realizado por Paes et al. (2003) demonstrou que a CCS e o número de *S.aureus* são menores nos caprinos suplementados com vitamina E.

A utilização de medicamentos homeopáticos e fitoterápicos tem demonstrado resultados satisfatórios durante a terapia dos casos de mastite, porém os estudos são voltados em sua maioria para espécies bovina (Egan 1995, Almeida 2004, Thomaz 2004). Mitidiero (2002) demonstrou que esta terapia alternativa permite manter a sanidade do rebanho em padrões semelhantes aos da alopatia, constituindo-se assim, em uma opção viável para os produtores de leite. Estudos *in vitro* visando à determinação do potencial antimicrobiano de plantas pertencentes à flora brasileira têm demonstrando resultados satisfatórios (Granato et al., 2005; Oliveira et al., 2007; Ushimaru et al., 2007), porém observa-se a descontinuidade destes estudos e uma fragmentação dos resultados, não permitindo muitos avanços na área.

## 5. Considerações finais

Observa-se que dentre os principais patógenos da mastite em pequenos ruminantes, destaca-se o gênero *Staphylococcus*, nos diferentes sistemas de criação. Além disso, os dados acerca da prevalência da enfermidade apresentam ampla variação, estando na dependência de uma série de fatores, dentre estes, estão aqueles ligados à região. Quanto ao diagnóstico tem-se uma discordância nos limites indicativos da presença da infecção, o que sugere ser este um vasto campo de pesquisa na tentativa de determinar os padrões limites da CCS, principalmente na espécie caprina.

No Brasil, tem-se observado um aumento no número de criações destinadas a produção de leite, especialmente a caprinocultura leiteira, sendo de fundamental importância a realização de estudos direcionados para os aspectos etiológicos, epidemiológicos e de diagnóstico da mastite caprina e ovina, visando fornecer subsídios para a elaboração de programas de controle e profilaxia da enfermidade e, desta forma, minimizar os prejuízos econômicos resultantes da presença da enfermidade. Além disso, considerando o baixo custo da fitoterapia, tornam-se necessários estudos acerca da atividade *in vitro* dos extratos de plantas.

## 6. Referências bibliográficas

- Aires-de-sousa M., Parente C.E.S.R. Vieira-da-Motta O., Bonna I.C.F., Silva D.A. & Lencastre H. 2007. Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates from Buffalo, Bovine, Ovine, and Caprine Milk Samples Collected in Rio de Janeiro State, Brazil. *Appl. and Environ. Microbiol.* 73(12):3845-3849.
- Ajuwape A.T.P., Roberts A.A., Solarin O.O. & Adetosoye A.I. 2005. Bacteriological and haematological studies of clinical mastitis in goats in Ibadan, OYO State, Nigeria. *Small Rumin. Res.* 60:307-310.
- Albizu I. & Baselga R. 2002. Sheep and goat mastitis: seasonal variation in aetiology. *Albeitar.* 53:28.
- Al-majali A.M. & Jawabreh S. 2003. Period prevalence and etiology of subclinical mastitis in Awassi sheep in southern Jordan. *Small Rumin. Res.* 47:243–248.
- Almeida J.F. 2009. Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra in natura. Tese de Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, RJ. 106p.
- Almeida L.A.B. 2004. Avaliação do tratamento alopático e homeopático de mastite bovina em animais inoculados com *Staphylococcus aureus*. Dissertação de Mestrado em epidemiologia experimental e aplicada às zoonoses, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 104p.
- Ameh M.J.A. & Tari I.S. 2000. Observations on the prevalence of caprine mastitis in relation to predisposing factors in Maiduguri. *Small Rumin. Res.* 35:1-5.
- Amorena B., Baselga R. & Albizu I. 1994. Use of liposome-immuno potentiated exopolysaccharide as a component of an ovine mastitis staphylococcal vaccine. *Vaccine.* 12:243-249.
- Anderson D.E., Hull B.H., Pugh D.G. 2004. Enfermidades da glândula mamária, p.379-399. In: Pugh D.G. (Eds), *Clínica de Ovinos e Caprinos*. 1º ed. Roca, São Paulo.
- Andrade P.V.D., Souza M.R., Borges I. & Penna C.F.A.M. 2001. Contagem de células somáticas em leite de cabra. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53(3):396-400.

- Ariznabarreta A., Gonzalo C. & San Primitivo F. 2002. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. *J. Dairy Sci.* 85:1370-1375.
- Azevedo E.O., Alcântara M.D.B., Nascimento E.R., Tabosa I.M., Barreto M.L., Almeida J.F., Araújo M.O., Rodrigues A.R.O., Riet-Correa F. & Castro R.S. 2006. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. *Braz. J. Microbiol.* 37:576-581.
- Balaban N. & Rasooly A. 2000. Staphylococcal enterotoxins: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 61:1-10.
- Bergonier D. & Berthelot X. 2003. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livest. Prod. Sci.* 79:1-16.
- Bergonier D., De Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G. & Berthelot X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34:689-716.
- Bezerra A. C. A., Feijó F. M. C., Silva J. S. & Avelino D. B. 2006. Relação entre o "California Mastitis Test" e os agentes microbianos de mastites em caprinos no estado do Rio Grande do Norte. *Rev. Bras. de Med. Vet.* 28(4):160-165.
- Birgel Junior, E.H., Cestari, V., Sampaio, R.M., Lara, M.C.C.S.H., Birgel, D.B., Raimondo, R.F.S., Brandespin, F.B. & Birgel, E.H. 2007. Influência da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina nas características físico-químicas e celulares do leite de caprinos. *Arq. Inst. Biol.* 74(3):199-206.
- Blagitz M.G., Batista C.F., Souza F.N., Benites N.R., Melville P.A., Stricagnolo C.R., Ricciardi M., Gomes V., Azevedo M.R., Sanches B.G.S. & Della Libera A.M.M.P. 2008. Perfil celular e microbiológico do leite de ovelhas Santa Inês no período lactante e pós-desmame. *Pesq. Vet. Bras.* 28(9):417-422.
- Bolsanello R.X., Hartman M., Domingues P.F., Mello Júnior A.Z. & Langoni H. 2009. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácia submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedade de Botucatu, SP. *Vet. e Zootec.* 16(1):221-227.
- Callado A.K.C., Castro R.S. & Teixeira M.F.S. 2001. Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-visna): revisão e perspectivas. *Pesq. Vet. Bras.* 21(3):87-97.
- Chaffer M., Leitner G., Zamir S., Winkler M., Glickman A., Ziv N. & Saran A. 2003. Efficacy of dry-off treatment in sheep. *Small Rumin. Res.* 47:11-16.

- Coelho A.J.C., Peixoto R.M., Andrade N.P.C., Nogueira D.M., Krewer C.C., Alencar P.H.P. & Costa M.M. 2008. Eficácia de três métodos empregados no controle da mastite estafilocócica em cabras leiteiras criadas no município de Santa Maria da Boa Vista, PE. Anais V Congresso Nordestino de Produção Animal, Aracaju, SE (Resumo).
- Contreras A. 1996. Factors affecting milk somatic-cell counts in murciano-granadina goats. p.173-176. In: Ed. Rubino R. (Ed.), Somatic Cells and Milk of Small Ruminants. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Contreras A., Paape M.J., Di Carlo A.L., Miller R.B. & Rainard P. 1997. Evaluation of selected antibiotic residue screening tests for milk from individual goats. J. Dairy Sci. 80:1113-1118.
- Contreras A., Luengo C., Sanchez A. & Corrales J.C. 2003. The role of intramammary pathogens in dairy goats. Livest. Prod. Sci. 79:273-283.
- Contreras A., Sanchez A. & Corrales J. 2004. Health priorities in dairy goats. p.229-243. In: Daza A., Fernández C. & Sánchez A. (Eds.), Goat Livestock: Production, Nutrition and Health. Agrícola Espanola, Espana.
- Contreras A., Sierra, D., Sánchez A., Corrales J.C., Marco J.C., Paape M.J. & Gonzalo C. 2007. Mastitis in small ruminants. Small Rumin. Res. 68:145-153.
- Corrales J.C., Sanchez A., Luengo C., Poveda J.B. & Contreras A. 2004. Effect of clinical contagious agalactia on the bulk tank milk somatic cell count in Murciano–Granadina goat herds. J. Dairy Sci. 87:3165-3171.
- Coutinho D.A., Costa J.N, Ribeiro M.G. & Torres J.A. 2006. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. Rev. Bras. Saúde Prod. An. 7(2):139-151.
- Domingues P.F., Lucheis S.B., Serrão L.S., Fernandes L.S., Contente A.P.A., Martins E.C.V. & Langoni H. 2006. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. ARS Veterinária. 22(2):146-152.
- Egan J. Evaluation of a homeopathic treatment for subclinical mastitis. 1995. Vet. Rec. 137(2):48.
- Erskine R.J, Kirk J.H., Tyler J.W., DeGraves F.J. 1993. Advances in the therapy of mastitis. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 9(3):499-517.

- Fagundes H. & Oliveira C.A.F. 2004. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. Ciênc. Rural. 34(4):1315-1320.
- Fox L.K., Hancock D.D. & Horner S.D. 1992. Selective intramammary antibiotic therapy during the nonlactating period in goats. Small Rumin. Res. 9:313-318.
- Freitas M.F.L., Leal Balbino T.C., Mota R.A. & Stamford T.L.M. 2004. Exotoxinas estafilocócicas. Ciênc. Vet. Tróp. 7(2 e 3):63-74.
- Gomes V., Della Libera A.M.M.P., Paiva M., Madureira K.M. & Araújo W.P. 2006. Effect of the stage of lactation on somatic cell counts in healthy goats (*Caprae hircus*) breed in Brazil. Small Rumin. Res. 64:30-34.
- Goni P., Vergara Y., Ruiz J., Albizu I., Vila J. & Gomez-Lus R. 2004. Antibiotic resistance and epidemiological typing of *Staphylococcus aureus* strains from ovine and rabbit mastitis. Int. J. Antimicrob. Agents. 23:268-272.
- Gonzalo C., Tardáguila J.A. De La Fuente L.F. & San Primitivo F. 2004. Effects of selective and complete dry therapy on prevalence of intramammary infection and on milk yield in the subsequent lactation in dairy ewes. J. Dairy Res. 71:33-38.
- Granato D., Nunes D.S., Mattos P.P. Rios E.M., Glinski A. Rodrigues, L.C. & Zanusso Júnior G. 2005. Chemical and biological evaluation of rejects from the wood industry. Braz. Arch. of Biol. and Technol. 48:237-241.
- Harmon R.J. & Langlois B.E. 1989. Mastitis due to coagulase-negative *Staphylococcus* species. Agri-Practice. 10:29-34.
- Hartman M., Bolsanello R.X., Domingues P.F., Mello Júnior A.Z. & LANGONI H. 2009. Efeito da mastite sobre a contagem de células somáticas em ovelhas da raça Bergamácia. Vet. e Zootec. 16(1):213-220.
- Hogan J.S., White D.G. & Pankey J.W. 1987. Effects of teat dipping on intramammary infections by staphylococci other than *Staphylococcus aureus*. J. Dairy Sci. 70:873-879.
- Hogan J.S., Weiss W.P. & Smith K.L. 1993. Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. J. Dairy Sci. 76:2795-2803.
- IDF. 1995. Enumeration of Somatic Cells, FIL-IDF Standard no. 148A. International Dairy Federation Brussels, Belgium. 8 pp.

- Langoni H., Domingues P.F. & Baldini S. 2006. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. Rev. Bras. de Ciênc. Vet. 13(1):51-54.
- Leitner G., Silanikove N. & Merin U. 2008. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. Small Rumin. Res. 74:221-225.
- Leitner G., Sela S., Hammer-Muntz O, Zivotofsky D., Weisblit L., Chaffer M. & Zamir S. 2009. Outbreak of subclinical mastitis in a flock of dairy goats associated with atypical *Staphylococcus haemolyticus*. J.Dairy Res.76:1-5.
- Lima Júnior A.D., Nader Filho A. & Vianni M.C.E. 1995. Fatores condicionantes da mastite subclínica caprina em criatórios do Rio de Janeiro. Arq. Bras. de Med. Vet e Zootec. 47(4):463-474.
- Lollai S.A., Ziccheddu M., Maurob C.D., Manunta D., Nuddab A. & Leori G. 2008. Profile and evolution of antimicrobial resistance of ovine mastitis pathogens. Small Rumin. Res. 74:249-254.
- Mavrogianni V.S., Alexopoulos C. & Fthenakis G.C. 2004. Field evaluation of flunixin meglumine in the supportive treatment of caprine mastitis. J. Vet. Pharmacol. Ther. 27:373-375.
- McDougall S., Murdough P., Pankey W., Delaney C., Barlow J. & Scruton D. 2001. Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. Small Rumin. Res. 40:245–254.
- Melo C.B., Almeida B.M., Oliveira A.A., Azevedo H.C., Melo L.S.S. & Mata S.S. 2008. Avaliação de uma metodologia profilática contra a mastite clínica em ovelhas da raça Santa Inês. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60(4):1011-1013.
- Mitidiero A.M.A. 2002. Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterapia como opção na bovinocultura de leite: avaliação dos aspectos sanitários e de produção. Dissertação de Mestrado em Agroecossistemas, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 119p.
- Moroni P., Pisoni G., Ruffo G. & Boettcher P.J. 2005. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. Prev. Vet. Med. 69:163-173.
- Mota R.A. 2008. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. Tecnol. & Ciên. Agropec. 2(3):57-61.

- Mota R.A., De Castro F.J.C., Da Silva L.B.G. & Oliveira A.A.F. 2000. Etiologia e sensibilidade a antimicrobianos in vitro das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. *A Hora Veterinária*. 19(114):26-29.
- Muricy, R.F. 2003. Ocorrência de mamite subclínica em caprinos e qualidade higiênicosanitária do leite produzido em propriedades associadas à Coopertativa Languiru, Teutônia - RS. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 83p.
- Nickerson S.C. 1993. Preventing new *Staphylococcus aureus* mastitis infections. *Vet Med*. 33:368-373.
- Nunes G.R., Blagitz M.G., Freitas C.B., Souza F.N., Ricciardi M., Stricagnolo C.R., Sanches B.G.S., Azedo M.R., Sucupira M.C.A. & Della Libera AM.M.P. 2008. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite ovina. *Arq. Inst. Biol.* 75(3):271-278.
- Oliveira D.F., Pereira A.C., Figueiredo H.C.P., Carvalho D.A., Silva G., Nunes A.S., Alves D.S. & Carvalho H.W.P. 2007. Antibacterial activity of plant extracts from Brazilian southeast region. *Fitoterapia*. 78:142-145.
- Paape M.J. & Capuco A.V. 1997. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. *J. Anim. Sci.* 75:556-565.
- Paape M.J., Poutrel B., Contreras A., Marco J.C. & Capuco A.V. 2001. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *J. Dairy Sci.* 84:237-244.
- Paes P.R.O., Lopes S.T.A., Lopes R.S., Kohayagawa A., Takahira R.K. & Langoni H. 2003. Efeitos da administração de vitamina E na infecção mamária e na contagem de células somáticas de cabras primíparas desafiadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55(1):15-20.
- Pereira M.L., Carmo L.S. & Pereira J.L. 2001. Comportamento de estafilococos coagulase negativos pauciprodutores de enterotoxinas em alimentos experimentalmente inoculados. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 21:171-175.
- Pessoa A.L.P., Lima Junior, A.D. & Mota R.A. 1999. Estudo do limiar de células somáticas no leite de cabras na região metropolitana de Recife e agreste de Pernambuco. *Ciênc. Vet. Trop.* 2(2):100-107.

- Pinheiro R.R., Gouveia A.M.G., Alves F.S.F. & Haddad J.P.A. 2000. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec. 52(5):534-543.
- Pinheiro Junior J.W., Oliveira A.A.F., Alves F.S.F., Silva L.B.G., Rabelo S.S.A. & Mota R.A. 2006. Corynebacterium pseudotuberculosis experimental infection of goats mamary gland. Arq. Inst. Biol. 73(4):395-400.
- Portes V.M., Wolff C., Vaz A.K. & Dick W. 2006. Efeito da vacinação contra a mastite estafilocócica sobre a associação de *Staphylococcus* spp. a células do leite. Acta Scient. Vet. 34(2):137-141.
- Poutrel B., De Crémoux R., Ducelliez M. & Verneau D. 1997. Control of intramammary infections in goats: Impact on somatic cell counts. J. Anim. Sci. 75:566-570.
- Prestes D.S, Filappi A. & Cecim M. 2002. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam – uma revisão. Revista da FZVA. 9(1):118-132.
- Pyörälä S. & Taponen S. 2009. Coagulase-negative staphylococci - Emerging mastitis pathogens. Vet. Microbiol. 134:3-8.
- Rainard P., Corrales J.C., Barrio M.B., Cochard T. & Poutrel B. 2003. Leucotoxic activities of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows, ewes, and goats with mastitis: importance of LukM/LukF'-PV leukotoxin. Clin. Diagn. Lab Immunol. 10:272-277.
- Raynal-Ljutovac K., Pirisi A., Crémoux R. & Gonzalo C. 2007. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. Small Rumin. Res. 68:126-144.
- Sánchez A., Contreras A., Jiménez J., Luengo C., Corrales J.C. & Fernández C. 2003. Effect of freezing goat milk samples on recovery of intramammary bacterial pathogens. Vet. Microbiol. 94:71-77.
- Sánchez A., Contreras A., Corrales J.C. & Muñoz P. 2004. Influence of sampling time on bacteriological diagnosis of goat intramammary infection. Vet. Microbiol. 98:329-332.
- Santos L.F.L., Castro R.S. & Costa E.O. 1995. "California Mastitis Test" e "Whiteside modificado" como triagem para mastite caprina. Pesq. Agrop. Bras. 30(2):295-298.

- Santos A.R., Scherer S. & Schmidt V. 2004. Validação da contagem de células somáticas e do California Mastitis Test como método de diagnóstico da mastite subclínica em caprinos. *Rev. de Ciênc. Agrovet.* 3(1):50-55.
- Santos C.D.M. 2006. *Staphylococcus* sp. e enterobactérias isoladas de mastite recorrente em oito rebanhos da região de Uberlândia-MG: perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 54p.
- Santos R.A., Mendonça C.L., Afonso J.A.B. & Simão L.C.V. 2007. Aspectos clínicos e características do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. *Pesq. Vet. Bras.* 27(1):6-12.
- Saratsis P., Leontides L., Tzora A., Alexopoulos C. & Fthenakis G.C. 1998. Incidence risk and aetiology of mammary abnormalities in dry ewes in flocks in Southern Greece. *Prev. Vet. Med.* 37:173-183.
- Sears P.M. & McCarthy K.K. 2003. Management and treatment of Staphylococcal mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19(1):171-185.
- Shpigel N.Y., Elazar S. & Rosenshine I. 2008. Mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Curr. Op Microbiology.* 11:60-65.
- Shwimmer A., Kenigswald G., Van Straten M., Lavic Y., Merin U., Weisblit L. & Leitner G. 2008. Dry-off treatment of Assaf sheep: Efficacy as a management tool for improving milk quantity and quality. *Small Rumin. Res.* 74:45-51.
- Sierra D., Sánchez A., Luengoa C., Corrales J.C., Moralesa C.T., Contreras A. & Gonzalo C. 2006. Temperature effects on Fossomatic cell counts in goats milk. *Int. Dairy J.* 16:385-387.
- Silva E.R., Araújo A.M., Alves F.S.F., Pinheiro R.R. & Saukas T.N. 1999. Fatores que interferem no conteúdo celular do leite de cabra. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.* 51(1):67-69.
- Silva E.R., Araújo A.M., Alves F.S.F., Pinheiro R.R. & Saukas T.N. 2001. Associação entre o California Mastitis Test e a Contagem de Células Somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 38:46-48.
- Silva E.R., Siqueira A.P., Martins J.C.D., Ferreira W.P.B. & Silva N. 2004. Identification and in vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goat mastitis in the Northeast of Brazil. *Small Rumin. Res.* 55:45-49.

- Silva E.R., Araújo A.M., Pinheiro R.R. & Alves F.S.F. 2005a. Efeito do estágio de lactação e da ordem de parto sobre o conteúdo celular do leite de cabras mestiças. *Vet. Not.* 11(1):81-86.
- Silva E.R., Boechat J.U.D., Martins J.C.D, Ferreira W.P.B, Siqueira A.P. & Silva N. 2005b. Hemolysin production by *Staphylococcus aureus* species isolated from mastitic goat milk in Brazilian dairy herds. *Small Rumin. Res.* 56:271-275.
- Silva E.R., Carmo L.S. & Silva N. 2005c. Detection of the enterotoxins A, B, and C genes in *Staphylococcus aureus* from goat and bovine mastitis in Brazilian dairy herds. *Vet. Microbiol.* 106:103-107.
- Soares L.C., Pereira I.A., Coelho S.M.O., Cunha C.M.M, Oliveira D.F.B., Miranda A.N. & Souza M.M.S. 2008. Caracterização fenotípica da resistência a antimicrobianos e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos isolados de amostras animais e humanas. *Ciênc. Rural.* 38(5): 1346-1350.
- Souza G.N., Brito J.R.F., Brito M.A.V.P., Lange C., Faria C.G., Moraes L.C.D., Fonseca R.G. & Silva Y.A. 2009. Composition and bulk tank somatic cell counts of milk from dairy goat herds in Southeastern Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 46(1):19-24.
- Taponen S. & Pyörälä S. 2009. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis – Not so different from *Staphylococcus aureus*? *Vet. Microbiol.* 134:29-36.
- Thomaz L.W. 2004. Efeito da utilização de medicamentos no tratamento da mastite subclínica em vacas leiteiras. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. 66p.
- Tollersrud T., Norstebo P.E., Engvik J.P., Andersen S.R., Reitan L.J. & Lund A. 2002. Antibody responses in sheep vaccinated against *Staphylococcus aureus* mastitis: a comparison of two experimental vaccines containing different adjuvants. *Vet. Res. Commun.* 26:587-600.
- Tonin F.B. & Nader Filho A. 2005. Correlação entre o “California Mastitis Test” e o exame bacteriológico no leite de cabras. *ARS Veterinária.* 21:155-159.
- Turin L., Pisoni G., Giannino M.L., Antonini M., Rosati S., Ruffo G. & Moroni P. 2005. Correlation between milk parameters in CAEV seropositive and negative

primiparous goats during an eradication program in Italian farm. *Small Rumin. Res.* 57:73-79.

Ushimaru P.I., Silva M.T.N., Di Stasi L.C., Barbosa L. & Fernandes Junior A. 2007. Antibacterial activity of medicinal plant extracts. *Bras. J. Microbiol.* 38:717-719.

Vaz A.K. 1996. Mastite em ovinos. *A Hora Veterinária.* 93:75-78.

Vilanova M., Gonçalves M., Osório M.T.M., Esteves R. & Schmidt V. 2008. Aspectos sanitários do úbere e composição química do leite de cabras Saanen. *Acta Scient. Vet.* 36(3):235-240.

Zeng S.S. 1996. Comparisons of goat milk standards with cow milk standards of analyses somatic cell count, fat, and protein in goat milk. *Small Rumin. Res.* 21:221-225.

## **CAPÍTULO 2**

**Etiologia, sensibilidade antimicrobiana de isolados bacterianos da mastite em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico**

**(a ser submetido para Revista Pesquisa Veterinária Brasileira)**

# Etiologia, sensibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos da mastite em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico<sup>1</sup>

Rodolfo de M. Peixoto<sup>2</sup>, Mateus M. da Costa<sup>3\*</sup>

**ABSTRACT.-** Peixoto R.M. & Costa M.M. 2009. **[Etiology, antimicrobial sensitivity of bacteria from small ruminants mastitis and relationship of diagnostic techniques.]** Etiologia, sensibilidade antimicrobiana dos isolados da mastite em pequenos ruminantes e correlação de técnicas empregadas no diagnóstico. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(00):00-00. Campus Ciências Agrárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rod. BR 407, Km 12, Lote 543. Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, s/n. Petrolina, PE 56300-990, Brazil. E-mail: [mateus.costa@univasf.edu.br](mailto:mateus.costa@univasf.edu.br)

Mastitis is an inflammation of mammary gland, that are important in milking breed as well in meat ones. It is associated with serious reduction in milk production and quality, lambs weight gain reduction and mortality. The goal of this work was determine the major etiologic agents of goat and sheep mastitis, as well as antimicrobial drug-resistance patterns and the agreement between two different diagnostic tools. We visit 25 goat, sheep, and goat and sheep farms in Pernambuco and Bahia State, and a total of 439 goats and 76 sheep milk samples were collected. To diagnose of small ruminant mastitis were compared two tests: Milk culture and California Mastitis Test (CMT). The bacterial drug-resistance pattern was determined by Kirby Bauer test. *Staphylococcus* spp. was the most frequent bacteria isolated from goat and sheep mastitis cases. *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. and gram-negative bacilli were isolated. It was possible to observe the high sensitivity to antimicrobial drugs in all tested bacteria, being the lower sensitivity percentage determined to nalidixic acid. Considering caprine mastitis diagnostic the comparative analysis between microbiologic culture and shown a concordance degree of  $K=0,17$ , although to ovine species these value was  $K=0,22$ . The use of CMT to subclinical mastitis diagnostic in goat and ewes must be associated to milk bacterial culture.

INDEX TERMS: pathogens, antimicrobial sensitivity, diagnostic, mastitis.

---

<sup>1</sup> Recebido em      de      de 2009.

Aceito para publicação em      de      2009.

<sup>2</sup> Mestrando do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Campus Ciências Agrárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rod. BR 407, Km 12, Lote 543. Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, s/n. Petrolina, PE 56300-990, Brazil.

<sup>3</sup> Campus Ciências Agrárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rod. BR 407, Km 12, Lote 543. Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, s/n. Petrolina, PE 56300-990, Brazil. \*Autor para correspondência: [mateus.costa@univasf.edu.br](mailto:mateus.costa@univasf.edu.br)

**RESUMO.-** A mastite é a inflamação da glândula mamária que acomete raças de aptidão leiteira como também aquelas voltadas para produção de carne. Esta enfermidade ocasiona sérias alterações na produção de leite e na sua qualidade, redução no ganho de peso e mortalidade de cordeiros. O presente estudo teve por objetivo conhecer os principais agentes causadores de mastite em ovinos e caprinos, bem como a sua susceptibilidade aos agentes antimicrobianos, além de avaliar o grau de concordância entre testes diagnósticos. Foram visitadas 25 propriedades durante a realização do experimento, sendo criatórios de caprinos, ovinos e rebanhos mistos, nos estados de Pernambuco e Bahia. Coletou-se leite de 439 caprinos e 76 ovinos. Foi realizada lactocultura, o California Mastitis Test (CMT) e o teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Além disso, determinou-se o grau de concordância entre os testes diagnósticos empregados. Foi constatada uma maior frequência de *Staphylococcus* spp. nos casos de mastite em caprinos e ovinos, sendo observado ainda, isolados de *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e bacilos gram negativos (BGN). Os isolados apresentaram alta sensibilidade aos antimicrobianos testados, sendo o menor percentual de sensibilidade observado para o ácido nalidíxico. Em relação ao diagnóstico da mastite caprina, a análise comparativa entre o exame microbiológico e o CMT demonstrou um grau de concordância igual a  $K=0,17$ , enquanto que para a espécie ovina, este valor foi de  $K=0,22$ . A utilização do CMT para o diagnóstico da mastite subclínica em cabras e ovelhas deverá ser associado à técnica da lactocultura.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** patógenos, sensibilidade antimicrobiana, diagnóstico, mastite

## 1. Introdução

A produção de ovinos e caprinos no semi-árido é uma atividade relacionada à agricultura familiar, possuindo um forte compromisso com o desenvolvimento regional. No entanto, alguns problemas de ordem sanitária acarretam diminuição do potencial produtivo dos animais. Dentre estes problemas, destaca-se a mastite, que se caracteriza por um processo inflamatório da glândula mamária, provocado na sua maioria por micro-organismos (Silva et al. 2001). Dentre as formas de mastite, a mastite clínica é facilmente diagnosticada por alterações no leite e no úbere, enquanto que a subclínica necessita de ferramentas diagnósticas para detecção do aumento da contagem de células somáticas (CCS) (Ladeira 1998, Anderson et al. 2004).

Segundo Contreras et al. (2007), a incidência da mastite clínica em pequenos ruminantes é inferior a 5%, no entanto para a subclínica este percentual situa-se entre 5 e 30%. Os principais gêneros bacterianos encontrados em casos de mastite em pequenos ruminantes são: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* sp., a *Mannheimia haemolytica* e algumas espécies de fungos, porém menos frequentes (Bergonier & Berthelot 2003, Gonzalo et al. 2004, Contreras et al. 2007). Em ovinos, *Staphylococcus aureus* e *Pasteurella haemolytica* são responsáveis por 80% dos casos de mastite aguda, enquanto que *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN) e *Corynebacterium* spp. são causadores da maioria dos casos de mastite subclínica (Vaz 1996).

O isolamento de SCN geralmente está associado à ausência de sinais clínicos evidentes. Contudo, podem causar infecções persistentes que resultam em maiores contagens de células somáticas (CCS), tendo como principal consequência a diminuição da qualidade do leite. Além disso, a seleção de micro-organismos resistentes é mais comum entre as espécies de SCN, que também podem causar injúrias no tecido mamário ocasionando queda da produção de leite (Contreras et al. 1997, Ariznabarreta et al. 2002, Taponen & Pyörälä 2009). Embora os SCN sejam considerados patógenos maiores da mastite em pequenos ruminantes, os mecanismos de patogenicidade nos quadros subclínicos da enfermidade ainda são desconhecidos (Contreras et al. 2007).

Na mastite clínica, embora envolva os sinais clínicos característicos da enfermidade como dor, edema nos quartos afetados, o diagnóstico nem sempre é

fácil. Da mesma forma, o diagnóstico da mastite subclínica é bastante complicado e envolve a detecção de células somáticas e o cultivo bacteriano (Klaas et al. 2004). Os métodos diretos empregados no diagnóstico da mastite baseiam-se na identificação do agente etiológico mediante a demonstração da presença de micro-organismos nas amostras de leite encaminhadas aos laboratórios. Por outro lado, os testes indiretos se fundamentam em vários critérios de evolução de intensidade da reação inflamatória (Mota 2008).

Nas formas agudas e crônicas, o diagnóstico é realizado considerando-se os sinais clínicos, no primeiro caso, observa-se o aparecimento súbito de febre (40° a 42°C), perda de apetite, apatia, dispnéia e relutância em se locomoverem, no segundo caso, observa-se principalmente a fibrose do tecido mamário. Nos casos de mastite gangrenosa, o úbere apresenta coloração azulada e com aspecto edematoso (Mota 2008, Anderson et al. 2004). A cultura bacteriológica do leite é considerada o teste padrão ouro para o diagnóstico das infecções intramamárias em espécies leiteiras. Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos objetivando alcançar maiores taxas de recuperação de patógenos em amostras de leite contaminadas. Os testes bacteriológicos seletivos são importantes, pois diminuem o número de coletas que seriam necessárias para isolamento dos micro-organismos, diminuindo os custos e possibilitando a implantação de programas para o controle da mastite (Contreras et al. 2007).

Vários testes podem ser utilizados para determinar a contagem de CCS no leite, como o *California Mastitis Test* (CMT), o *Wisconsin Mastitis Test* (WMT) e a CECS (Contagem eletrônica de células somáticas) (Schroder & Hamman 2005). A contagem de células somáticas constitui a base das técnicas de diagnóstico indireto das mastites em todas as espécies de ruminantes leiteiros (Mota 2008). A maioria das diferenças entre caprinos e ovinos que afetam o diagnóstico da mastite é relacionada a CCS. Estas diferenças são, principalmente, em virtude da alta CCS em cabras não infectadas, o alto componente apócrino na secreção do leite e o elevado número de fatores não infecciosos que podem incrementar a contagem de células somáticas em cabras quando comparado com ovelhas (Paape et al. 2001). Vários trabalhos têm sido realizados na tentativa de estabelecer o padrão de CCS em cabras não infectadas, mas a comparação dos resultados constitui uma tarefa árdua em decorrência da quantidade de fatores biológicos e instrumentais que podem interferir nos resultados (Andrade et al. 2001).

Dessa forma é importante o conhecimento dos agentes causadores da mastite em ovinos e caprinos, bem como a determinação de sua sensibilidade aos agentes antimicrobianos, a fim de permitir o estabelecimento de uma terapia planejada com maiores chances de sucesso. Além disso, faz-se necessário estudo acerca da correlação entre técnicas diagnósticas voltadas para a mastite, principalmente na espécie caprina em decorrência das particularidades encontradas na fisiologia da glândula mamária nesta espécie.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1 Local e animais de estudo**

Foram visitadas 25 propriedades, sendo 17 criatórios de caprinos, seis de ovinos e dois rebanhos mistos, nos estados de Pernambuco e Bahia. As criações de caprinos eram destinadas à produção de leite, com animais de diferentes idades, estágios de lactação, sistemas de criação, com o emprego da ordenha manual. Os ovinos eram criados para a produção de carne, sendo a amostragem constituída por fêmeas recém-paridas, em diferentes idades, raças e sistemas de criação. Coletou-se leite de 439 caprinos e 76 ovinos, perfazendo um total de 515 animais e 1.030 metades mamárias.

### **2.2 California Mastitis Test (CMT)**

Para detecção da mastite subclínica foi utilizado o teste de CMT. Este foi realizado conforme descrições de Schalm & Noorlander (1957). O leite de cabras e ovelhas foi coletado após a lavagem dos tetos, sendo que os três primeiros jatos foram desprezados. O leite foi então misturado ao reativo, contendo detergente e púrpura de bromocresol em uma superfície plana. Em seguida foi observada a formação de grumos, a qual se apresentava com maior ou menor intensidade de acordo com a quantidade de células somáticas eliminadas pelo animal. Para a espécie caprina a positividade foi considerada a partir do escore  $\geq 2+$ , enquanto que na espécie ovina considerou-se o escore  $\geq 1+$ .

### **2.3 Coleta das amostras de leite**

O isolamento bacteriano foi realizado a partir de leite coletado antes da ordenha, após lavagem e cuidadosa anti-sepsia dos tetos com álcool a 70%, sendo que os três primeiros jatos foram desprezados. O leite foi coletado diretamente em frascos estéreis, previamente identificados e colocados em caixas isotérmicas com

gelo e encaminhados imediatamente ao laboratório de Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) para processamento.

## **2.4 Cultura Bacteriana**

Volumes de 10µl de cada amostra foram semeados com alça calibrada em cada quadrante de uma placa de Blood Agar Base acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Assim, foram consideradas positivas as placas que apresentavam uma colônia hemolítica e/ou aquelas que continham quatro colônias não hemolíticas ou mais com as mesmas características morfológicas. As bactérias foram identificadas de acordo com características morfológicas, bioquímicas e tintoriais, conforme descrito por Quinn et al. (1994). Para identificação dos isolados pertencentes ao gênero *Staphylococcus* foram realizados testes bioquímicos da coagulase, DNase, utilização da glicose semi-sólida e manitol semi-sólido, além dos meios purple ágar base, esculina e urease (Holt et al. 1994).

## **2.5 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos**

O perfil de sensibilidade dos micro-organismos foi determinado pelo método de difusão em disco Kirby-Bauer modificado (CLSI 2006). Os isolados foram semeados em caldo Müller Hinton e incubados a 37°C até obtenção de turvação conforme a escala 0,5 de Mac Farland. Com auxílio de um *swab*, os isolados foram semeados em placas de Petri contendo ágar Müller Hinton. Logo após foram aplicados os discos impregnados com as drogas antimicrobianas que incluíram: gentamicina (10µg), estreptomicina (10µg), neomicina (30µg), ceftriaxona (30µg), eritromicina (15µg), lincomicina (02µg), oxacilina (01µg), ampicilina (10µg), amoxicilina (10µg), ácido nalidíxico (30µg), ciprofloxacina (05µg), norfloxacina (10µg), enrofloxacina (5µg), tetraciclina (30µg), doxiciclina (30µg), rifampicina (05µg) e gentamox (35µg). As placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C. Após a leitura dos halos foi determinado o perfil de sensibilidade e resistência dos isolados.

## **2.6 Análise estatística**

Empregou-se a técnica de estatística descritiva por meio da distribuição das frequências relativa e absoluta para os achados microbiológicos. Para o cálculo do índice Kappa e da concordância entre os testes utilizou-se o WIN EPISCOPE 2.0 (Thrusfield 2004).

### 3. Resultados

Em relação ao diagnóstico indireto da mastite caprina, das 816 amostras negativas no CMT, 687 (84,2%) também foram negativas no exame microbiológico. Levando-se em consideração a positividade a partir do escore  $\geq 1+$ , observou-se que das 119 amostras positivas no CMT, 75 (63,0%) foram negativas no exame microbiológico (Quadro 1). A partir do escore  $\geq 2+$ , das 62 amostras positivas no CMT, 34 (54,8%) foram negativas no exame microbiológico. Os valores de concordância entre o exame microbiológico e o CMT foram iguais a 78,6 e 81,4% para a positividade partir dos escores  $\geq 1+$  e  $\geq 2+$ , respectivamente. O índice Kappa foi igual a  $K = 0,17$ .

Para a espécie ovina, observou-se que das 138 amostras negativas no CMT, 101 (73,2%) também foram negativas no exame microbiológico. A partir do escore  $\geq 1+$ , das 14 amostras positivas no CMT, quatro (28,6%) foram negativas no exame microbiológico (Quadro 2). A concordância entre o exame microbiológico e o CMT, partir do escore  $\geq 1+$  ou  $\geq 2+$  foi de 73%, sendo o índice Kappa igual a  $K = 0,22$ .

No exame microbiológico do leite, na espécie caprina, das 878 amostras de leite analisadas, observou-se que 17,9% ( $n=157$ ) foram positivas no exame microbiológico. Na espécie ovina, das 152 amostras de leite analisadas, observou-se uma positividade de 30,9% ( $n=47$ ). Os principais micro-organismos isolados das amostras de leite são listados no Quadro 1. Foram observadas as seguintes freqüências dos isolados obtidos de cabras e ovelhas, respectivamente: *Staphylococcus* spp. não identificados (29,9%) e (28,6%), *Staphylococcus aureus* (16,9%) e (14,3%), *Staphylococcus hyicus* (11,7%) e (10,7%), *Staphylococcus intermedius* (7,1%) e (16,1%), *Staphylococcus epidermidis* (6,5%) e (12,5%), *Streptococcus* spp. (2,6%) e (3,6%), *Corynebacterium* spp. (1,9%) e (5,4%) e enterobactérias (3,9%) e (7,1%). As espécies de *Staphylococcus caprae* (7,8%), *Staphylococcus simulans* (1,9%) e *Micrococcus* spp. (9,7%) foram provenientes apenas de amostras do leite de cabras. Por outro lado, o único isolado pertencente à espécie *Staphylococcus saprophyticus* (1,8%) foi oriundo de fêmea ovina.

**Quadro 1. Análise comparativa entre o exame microbiológico e CMT nos casos de mastite em cabras no Sertão da Bahia, 2009**

CMT	Exame microbiológico		Total	Índice Kappa (IC 95%)
	Positivo	Negativo		
Negativo	113	646	759 (86,4%)	
+	16	41	57 (6,5%)	0,17
++	15	25	40 (4,6%)	(0,06 – 0,29)
+++	13	09	22 (2,5%)	
<b>Total</b>	<b>157 (17,9%)</b>	<b>721 (82,1%)</b>	<b>878 (100%)</b>	

\*IC – Intervalo de confiança; (<0,20=pobre;0,21-0,40=fraca;0,41-0,60=moderada; 0,61-0,80=boa;>0,80=muito boa).

**Quadro 2. Análise comparativa entre o exame microbiológico e CMT nos casos de mastite em ovelhas no Sertão da Bahia, 2009**

CMT	Exame microbiológico		Total	Índice Kappa (IC 95%)
	Positivo	Negativo		
Negativo	37	101	138 (90,9%)	
Traços	-	-	-	0,22
+	01	01	02 (1,3%)	(0,01 – 0,42)
++	04	02	06 (3,9%)	
+++	05	01	06 (3,9%)	
<b>Total</b>	<b>47 (30,9%)</b>	<b>105 (69,1%)</b>	<b>152 (100,0%)</b>	

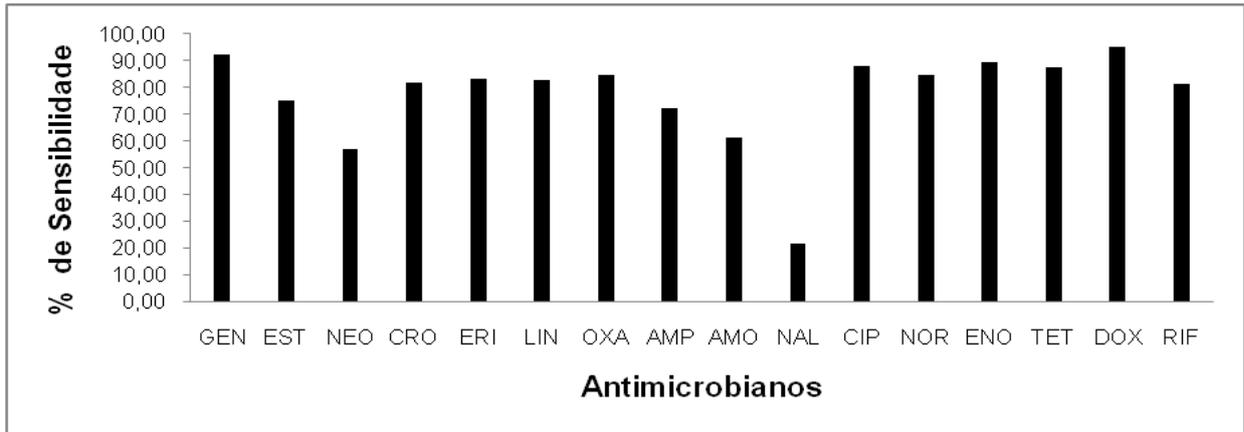
\*IC – Intervalo de confiança; (<0,20=pobre;0,21-0,40=fraca;0,41-0,60=moderada; 0,61-0,80=boa;>0,80=muito boa)

**Quadro 3. Frequências absoluta e relativa de bactérias de leite de cabras e ovelhas nos estados de PE e BA, 2009**

Bactéria Isolada	Caprinos		Ovinos		Caprino + Ovino	
	FA	FR	FA	FR	FA	FR
<i>Staphylococcus</i> spp.	46	29,9	16	28,6	62	29,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	16,9	08	14,3	34	16,2
<i>Staphylococcus hyicus</i>	18	11,7	06	10,7	24	11,4
<i>Staphylococcus intermedius</i>	11	7,1	09	16,1	20	9,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10	6,5	07	12,5	17	8,1
<i>Staphylococcus caprae</i>	12	7,8	-	-	12	5,7
<i>Staphylococcus simulans</i>	03	1,9	-	-	03	1,4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	01	1,8	01	0,5
<i>Micrococcus</i> spp.	15	9,7	-	-	15	7,1
<i>Streptococcus</i> spp.	04	2,6	2	3,6	06	2,9
<i>Corynebacterium</i> spp.	03	1,9	3	5,4	06	2,9
Enterobactérias	06	3,9	4	7,1	10	4,8
Total	154	100,0	56	100,0	210	100,0

F A = Frequência absoluta; FR= Frequência relativa.

O perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados obtidos de casos de mastite caprina e ovina estão na Figura 1. Foram observados os seguintes percentuais de sensibilidade: aminoglicosídeos (gentamicina = 92,39%, estreptomicina = 75,00% e neomicina = 56,74%); macrolídeo (eritromicina = 83,25%); lincosamida (lincomicina = 82,99%); beta-lactâmicos (ceftriaxona = 81,60%, oxacilina = 84,85%, ampicilina = 72,28% e amoxicilina = 61,49%); quinolonas (enrofloxacina = 89,35%, norfloxacina = 84,81%, ciprofloxacina = 87,82% e ácido nalidíxico = 21,74%); tetraciclinas (doxiciclina = 95,11% e tetraciclina = 87,43%); rifampicina = 81,42% e associação aminoglicosídeo+beta-lactâmico (gentamox = 26,09%).



**Fig. 1.** Percentual de sensibilidade aos antimicrobianos de isolados de mastite ovina e caprina. Onde: GEN (gentamicina), EST (estreptomicina), NEO (neomicina), CRO (ceftriaxona), ERI (eritromicina), LIN (lincomicina), OXA (oxacilina), AMP (ampicilina), AMO (amoxicilina), NAL (ácido nalidíxico), CIP (ciprofloxacina), NOR (norfloxacina), ENO (enrofloxacina), TET (tetraciclina), DOX (doxiciclina) e RIF (rifampicina).

#### 4. Discussão

Quando se relacionou as técnicas empregadas no diagnóstico da mastite em cabras, observou-se uma maior concordância entre o exame microbiológico e o CMT para o limiar  $\geq 2+$ . Pêsoa et al. (1999) encontraram os seguintes valores de concordância para os limiares  $\geq 1+$  e  $\geq 2+$ , 59,85 e 71,43%, respectivamente. Em decorrência do maior número de células somáticas no leite de fêmeas caprinas, estudos apontam uma maior confiabilidade do CMT quanto à sua sensibilidade a partir do nível de  $2+$ . Contudo, vários trabalhos demonstram uma ampla variação para os valores de concordância entre a positividade no CMT e a lactocultura (Contreras et al. 1996, Bezerra et al. 2006, Almeida 2009). Tonin & Nader Filho (2005), observaram que a concordância para o escore traços na espécie caprina foi o mais elevado, denotando a importância de se considerar qualquer grau de reatividade ao CMT, principalmente quando se pretende realizar a triagem de casos de mastite subclínica em cabras.

Na espécie ovina, não foi observada variação nos valores de concordância entre o exame microbiológico e o CMT para os limiares  $\geq 1+$  e  $\geq 2+$ , sugerindo que o limiar de  $\geq 1+$  pode ser empregado. Avaliando amostras de leite de fêmeas ovinas, Domingues et al. (2006) observaram que das 88 amostras positivas ao teste CMT, 14 (16,0%) apresentaram resultados negativos no cultivo microbiológico. A literatura ainda é controversa em relação aos valores de corte a serem utilizados, já que este teste foi desenvolvido para fêmea bovina, fato que representa maior acurácia para esta espécie (Maisi et al. 1987). Nunes et al. (2008) recomendam o escore  $1+$  do CMT para a discriminação entre as fêmeas ovinas, considerando que este escore apresenta boa especificidade sem comprometer demasiadamente a sensibilidade.

Os micro-organismos mais frequentes neste estudo foram os *Staphylococcus* spp. o que corrobora com vários outros estudos sobre a etiologia da mastite caprina e ovina no Brasil (Mota et al. 2000; Langoni et al. 2006; Coutinho et al. 2006, Domingues et al. 2006; Almeida 2009, Bolsanello et al. 2009). O isolamento de micro-organismos do gênero *Staphylococcus* reforça a sua importância na etiologia de mastite subclínica (Contreras et al. 2007). Marguet et al. (2000), avaliaram vários casos de mastite subclínica em ovelhas, sendo isolado apenas micro-organismos do gênero *Staphylococcus* spp. Coutinho et al. (2006) realizaram um estudo etiológico da mastite ovina no estado da Bahia, sendo observada elevada frequência de

*Staphylococcus* coagulase negativa (57,6%), seguido do *S. aureus* (15,2%), *Micrococcus* spp. (15,2%) e *Streptococcus* spp. (12%).

Observou-se neste estudo, elevada frequência da espécie *Staphylococcus aureus* (16,2%). Ameh & Tari (2000) evidenciaram maior frequência de *S. aureus* (37%) em rebanhos de cabras leiteiras em contraste com a presença dos SCN (6%). O isolamento de *S. aureus* demonstra a necessidade da implantação de medidas sanitárias visando minimizar os danos causados por esta espécie. Além disso, trata-se de um agente relevante para a saúde pública, principalmente devido a presença de toxinas (Fagundes & Oliveira 2004). De acordo com Freitas et al. (2004), vários trabalhos foram realizados sobre este micro-organismo, contudo outros estudos são necessários para se compreender melhor o envolvimento desta bactéria na etiologia de doenças que acometem humanos e animais, desde o tecido cutâneo até infecções sistêmicas.

Neste trabalho, 12,5% dos isolados provenientes do leite de ovelhas pertenciam à espécie *S. epidermidis*. De acordo com Bergonier et al. (2003), dentre as espécies de SCN mais prevalentes em ovelhas tem-se em ordem decrescente de importância estão: *S. epidermidis*, *S. xylosum*, *S. chromogenes* e *S. simulans*. Com relação à espécie caprina, 7,8% dos isolados eram *Staphylococcus caprae*, sendo esta considerada a espécie de maior ocorrência dentre os SCN (Bergonier et al. 2003).

Neste trabalho também foram isolados bacilos gram negativos (4,76%) pertencentes à família Enterobacteriaceae. O isolamento de micro-organismos da família Enterobacteriaceae associada à mastite clínica é um achado comum. As enterobactérias são consideradas importantes agentes das mastites ambientais (Prestes et al. 2002). Dentre os principais agentes ambientais, *Escherichia coli* destaca-se em virtude do severo quadro clínico (Brabes et al. 2003). Ribeiro et al. (2007) relataram a primeira ocorrência de um caso de mastite gangrenosa causada por três agentes infecciosos distintos em uma fêmea da espécie caprina, na qual foi observado um quadro clínico com alterações sistêmicas, sendo constatada a presença de *S. aureus*, *Clostridium perfringens* e *E. coli*.

Observou-se alta frequência de isolados sensíveis aos antimicrobianos utilizados neste trabalho. Observou-se menor percentual de sensibilidade para o ácido nalidíxico e para a associação gentamicina e amoxicilina. Poucos são os trabalhos que têm como resultados a identificação de cepas resistentes frente o

grupo das quinolonas, sendo relatado o desenvolvimento de resistência apenas em casos experimentais, depois de repetidas passagens, aparecendo de forma lenta e gradual (Scheer 1987). Alguns estudos realizados no Brasil demonstraram a presença de sensibilidade entre os diferentes patógenos isolados de casos de mastite em caprinos e ovinos (Silva et al. 2004, Coutinho et al. 2006, Almeida 2009), principalmente para a gentamicina (Mota et al. 2000, Langoni et al. 2006, Domingues et al. 2006).

Os grupos de antimicrobianos utilizados na terapia humana e veterinária são os mesmos e com isto a resistência cruzada pode ocorrer. Desta forma, estes patógenos podem representar um risco à saúde pública, especialmente pelo consumo de queijo cru (Contreras et al. 2007). Aliado a isto, o uso indiscriminado de antibióticos pode favorecer a seleção de micro-organismos resistentes e tem se tornado um problema de saúde pública. A detecção de cepas de *S. aureus* resistentes aos aminoglicosídeos deve ser considerada uma preocupação para saúde pública, dado ao mecanismo similar para cepas isoladas em humanos (Goni et al. 2004).

Lollai et al. (2008) analisaram o perfil e a evolução da resistência antimicrobiana de patógenos da mastite ovina entre o período de 1995 e 2004, identificando que a resistência de *Staphylococcus* spp. a penicilina pareceu ser menor do que o relatado em outros estudos (4,1% de cepas resistentes de *S. aureus* e 15,3% para *Staphylococcus coagulase negativa*). Índices maiores de resistência foram observados para aminoglicosídeos. Os autores concluíram que o perfil encontrado parece confirmar a menor resistência dos patógenos de ovinos, quando comparados aos de origem bovina.

## 5. Conclusões

- Na caprinocultura leiteira do sertão da Bahia e Pernambuco, os principais patógenos envolvidos em casos de mastite subclínica são aqueles pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp;
- Os rebanhos ovinos voltados para produção de carne também demonstram susceptibilidade à mastite;
- Os isolados bacterianos obtidos de casos de mastite deste estudo apresentam um elevado percentual de sensibilidade para a maioria dos grupos antimicrobianos. Entretanto, demonstra-se baixa sensibilidade para o ácido nalidíxico e a associação gentamicina e amoxicilina;
- A utilização do CMT para o diagnóstico da mastite subclínica em cabras e ovelhas deverá sempre ser associado à técnica da lactocultura.

**Agradecimentos:** à FACEPE pela concessão da bolsa de pós-graduação (R.M. Peixoto), a FAPESB pela concessão da bolsa de iniciação científica (A.F. Souza Júnior) e ao IDR sisal pelo apoio financeiro e cedência das instalações.

## 6. Referências bibliográficas

- Almeida J.F. 2009. Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra in natura. Tese de Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, RJ. 106p.
- Ameh M.J.A. & Tari I.S. 2000. Observations on the prevalence of caprine mastitis in relation to predisposing factors in Maiduguri. *Small Rumin. Res.* 35:1-5.
- Anderson D.E., Hull B.H., Pugh D.G. 2004. Enfermidades da glândula mamária, p.379-399. In: Pugh D.G. (Eds), *Clínica de Ovinos e Caprinos*. 1º ed. Roca, São Paulo.
- Andrade P.V.D., Souza M.R., Borges I. & Penna C.F.A.M. 2001. Contagem de células somáticas em leite de cabra. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53(3):396-400.
- Ariznabarreta A., Gonzalo C. & San Primitivo F. 2002. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. *J. Dairy Sci.* 85:1370-1375.
- Bergonier D. & Berthelot X. 2003. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livest. Prod. Sci.* 79:1-16.
- Bergonier D., De Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G. & Berthelot X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34:689-716.
- Bezerra A. C. A., Feijó F. M. C., Silva J. S. & Avelino D. B. 2006. Relação entre o "California Mastitis Test" e os agentes microbianos de mastites em caprinos no estado do Rio Grande do Norte. *Rev. Bras. de Med. Vet.* 28(4):160-165.
- Bolsanello R.X., Hartman M., Domingues P.F., Mello Júnior A.Z. & Langoni H. 2009. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácia submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedade de Botucatu, SP. *Vet. e Zootec.* 16(1):221-227.
- Brabes K.C.S., Andrade N.J., Mendonça R.C.S., Lima J.C. & Lopes F.A. 2003. Identificação e Classificação de Enterotoxinas Produzidas por *Staphylococcus* spp. Isolados de Ar de Ambiente, Manipuladores e de Superfícies em uma Indústria de Laticínios. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes.* 58(333):33-38.

- CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standards. Document CLSI M7-A7, CLSI, Wayne, Pennsylvania.
- Contreras A. 1996. Factors affecting milk somatic-cell counts in murciano-granadina goats. p.173-176. In: Ed. Rubino R. (Ed.), Somatic Cells and Milk of Small Ruminants. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Contreras A., Paape M.J., Di Carlo A.L., Miller R.B. & Rainard P. 1997. Evaluation of selected antibiotic residue screening tests for milk from individual goats. J. Dairy Sci. 80:1113-1118.
- Contreras A., Sierra, D., Sánchez A., Corrales J.C., Marco J.C., Paape M.J. & Gonzalo C. 2007. Mastitis in small ruminants. Small Rumin. Res. 68:145-153.
- Coutinho D.A., Costa J.N, Ribeiro M.G. & Torres J.A. 2006. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. Rev. Bras. Saúde Prod. An. 7(2):139-151.
- Domingues P.F., Lucheis S.B., Serrão L.S., Fernandes L.S., Contente A.P.A., Martins E.C.V. & Langoni H. 2006. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. ARS Veterinária. 22(2):146-152.
- Fagundes H. & Oliveira C.A.F. 2004. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. Ciênc. Rural. 34(4):1315-1320.
- Freitas M.F.L., Leal Balbino T.C., Mota R.A. & Stamford T.L.M. 2004. Exotoxinas estafilocócicas. Ciênc. Vet. Tróp. 7(2 e 3):63-74.
- Goni P., Vergara Y., Ruiz J., Albizu I., Vila J. & Gomez-Lus R. 2004. Antibiotic resistance and epidemiological typing of *Staphylococcus aureus* strains from ovine and rabbit mastitis. Int. J. Antimicrob. Agents. 23:268-272.
- Gonzalo C., Tardáguila J.A. De La Fuente L.F. & San Primitivo F. 2004. Effects of selective and complete dry therapy on prevalence of intramammary infection and on milk yield in the subsequent lactation in dairy ewes. J. Dairy Res. 71:33-38.
- Holt J.G. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore. 787p.

- Klaas I.C., Enevoldsen C., Vaarst M. & Houeh H. 2004. Systematic clinical examinations for identification of latent udder health types in Danish dairy herds. *J. Dairy Sci.* 87:1217-1228.
- Ladeira, S.R.L. 1998. Mastite ovina, p.261-264. In: Riet-Correa F., Schild A.L. & Méndez M.D.C. (Eds.), *Doenças de Ruminantes e Eqüinos*. Ed. Universitária/UFPel, Pelotas.
- Langoni H., Domingues P.F. & Baldini S. 2006. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Rev. Bras. de Ciênc. Vet.* 13(1):51-54.
- Lollai S.A., Ziccheddu M., Maurob C.D., Manunta D., Nuddab A. & Leori G. 2008. Profile and evolution of antimicrobial resistance of ovine mastitis pathogens. *Small Rumin. Res.* 74:249-254.
- Maisi P., Junttila J., Seppanen J. 1987. Detection of subclinical mastitis in ewes. *Brit. Vet. J.* 143:402-409.
- Marguet E.R., Vilanova C.P. & Salgado E. 2000. Study of subclinical mastitis in a sheep dairy herd. *Veterinaria Argentina.* 17(163):190-197.
- Mota R.A. 2008. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. *Tecnol. & Ciên. Agropec.* 2(3):57-61.
- Mota R.A., De Castro F.J.C., Da Silva L.B.G. & Oliveira A.A.F. 2000. Etiologia e sensibilidade a antimicrobianos in vitro das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. *A Hora Veterinária.* 19(114):26-29.
- Nunes G.R., Blagitz M.G., Freitas C.B., Souza F.N., Ricciardi M., Stricagnolo C.R., Sanches B.G.S., Azedo M.R., Sucupira M.C.A. & Della Libera AM.M.P. 2008. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite ovina. *Arq. Inst. Biol.* 75(3):271-278.
- Paape M.J., Poutrel B., Contreras A., Marco J.C. & Capuco A.V. 2001. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *J. Dairy Sci.* 84:237-244.
- Pêsoa A.L.P., Lima Júnior A.D. & Mota R.A. 1999. Estudo do limiar de células somáticas no leite de cabras na região metropolitana de Recife e agreste de Pernambuco. *Ciênc. vet. trop.* 2(2):100-107.
- Prestes D.S, Filappi A. & Cecim M. 2002. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam – uma revisão. *Revista da FZVA.* 9(1):118-132.
- Quinn P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe, London. 648p.

- Ribeiro M.G., Lara G.H.B., Bicudo S.D., Souza A.V.G., Salerno T., Siqueira A.K. & Geraldo J.S. 2007. An unusual gangrenous goat mastitis caused by *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli* co-infection. Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec. 59(3):810-812.
- Schalm O. W. & Noorlander D. O. 1957. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J. Am. Vet. Med. Assoc. 130(5):199-207.
- Scheer, M. 1987. Concentraciones de sustancia activa en el suero y em los tejidos después de administración oral y parenteral de Baytril. Not. Méd. Vet. 2:104-118.
- Schroder, A.C. & Hamman, J. 2005. The influence of technical factors on differential cell counts in milk. J. Dairy Res. 72:153-158.
- Silva E.R., Araújo A.M., Alves F.S.F., Pinheiro R.R. & Saukas T.N. 2001. Associação entre o California Mastitis Test e a Contagem de Células Somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 38:46-48.
- Silva E.R., Siqueira A.P., Martins J.C.D., Ferreira W.P.B. & Silva N. 2004. Identification and in vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goat mastitis in the Northeast of Brazil. Small Rumin. Res. 55:45-49.
- Taponen S. & Pyörälä S. 2009. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis – Not so different from *Staphylococcus aureus*? Vet. Microbiol. 134:29-36.
- Thrusfield M. V. 2004. Epidemiologia Veterinária. 2ª ed. Roca, São Paulo. 556p.
- Tonin F.B. & Nader Filho A. 2005. Correlação entre o “California Mastitis Test” e o exame bacteriológico no leite de cabras. ARS Veterinária. 21:155-159.
- Vaz A.K. 1996. Mastite em ovinos. A Hora Veterinária. 93:75-78.

## **CAPÍTULO 3**

**Fatores de risco para mastite subclínica em cabras leiteiras criadas no estado da Bahia**

**(a ser submetido para Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science)**

# **Fatores de risco para mastite subclínica em cabras leiteiras criadas no estado da Bahia**

## **Risk factors for subclinical mastitis in dairy goats raised in Bahia state**

Rodolfo de Moraes Peixoto<sup>1</sup>; Mateus Matiuzzi da Costa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Aluno do programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UNIVASF;

<sup>2</sup> Professor adjunto, Colegiado de Zootecnia, UNIVASF.

### **Resumo**

Objetivou-se nesse estudo identificar os fatores de risco associados à mastite subclínica caprina no sertão do estado da Bahia. Foram visitadas 13 propriedades, totalizando 320 cabras em lactação e 640 metades mamárias. Amostras de leite foram coletadas após prévia anti-sepsia do teto e processadas utilizando-se as técnicas convencionais para o isolamento e identificação dos micro-organismos. Para o estudo dos fatores de risco foram aplicados questionários com perguntas referentes ao manejo sanitário dos rebanhos. Os fatores identificados nesse estudo e associados à ocorrência da mastite foram a ausência da assistência técnica e a criação de animais mestiços. Outros estudos acerca dos fatores de risco que favorecem o aparecimento da mastite ainda são necessários, uma vez que constituem pré-requisitos para implantação de programas de controle e profilaxia voltados para a mastite caprina.

**Palavras-chave:** mastite, pequenos ruminantes, fatores de risco.

## **Abstract**

The present study has the purpose of to identify risk factors associated to goat subclinical mastitis in semiarid region of Bahia state. We analyzed 13 dairy goat farms where the milk collection was performed with 320 animals. Milk samples were collected after teat disinfection and submitted to standard culture and identification of microorganisms. We performed a transversal study to determine the occurrence of positive animals in Milk culture and establish the relationship with sanitary status and possible risk factors. In this study, the identified factors associated to goat mastitis occurrence were the technical assistance absence and half breed animals. The technical assistance and the choice of milking breeds are important in order to reduce dairy goat mastitis. Further studies about risk factors to mastitis are necessary, particularly to dairy goat mastitis control and prophylaxis programs implementation.

**Keywords:** mastitis, small ruminants, risk factors.

## 1. Introdução

A produção e a produtividade em caprinos podem ser influenciadas por uma série de fatores, destacando-se aqueles de origem nutricional, de manejo em geral e sanitária. No que se refere aos problemas de ordem sanitária, destacam-se as doenças de origem infecciosa e parasitária, que são responsáveis por inúmeras perdas econômicas, devido à baixa na produção de carne e/ou leite, além das altas taxas de mortalidade<sup>1</sup>. Nesse contexto, enfermidades causadas por vírus e bactérias, representam uma ameaça ao desenvolvimento da caprinocultura brasileira.

A mastite é uma das enfermidades mais comuns em rebanhos leiteiros. Sua etiologia é ampla, sendo a infecção causada primordialmente por micro-organismos<sup>2</sup>. Várias são as perdas decorrentes da presença da doença nos rebanhos, principalmente, devido à redução acentuada da produção de leite, gastos com medicamentos, honorários veterinários, além do descarte de animais. A prevalência anual da mastite é influenciada por uma série de fatores relacionados ao animal, ao patógeno e ao meio ambiente. Levantamentos de pesquisa demonstram que a mastite do tipo subclínica é a mais predominante nos rebanhos de pequenos ruminantes, com estimativa entre 5-30%, podendo apresentar níveis ainda maiores. Em contrapartida, os casos de mastite com evidências clínicas são relatados em níveis abaixo de 5%, podendo alcançar maiores taxas em determinadas situações<sup>3</sup>.

No Brasil, destaca-se a variação nos dados sobre a prevalência da mastite em caprinos e ovinos. Em criações de cabras leiteiras a frequência de mastite subclínica pode oscilar entre 22% e 75%<sup>4</sup>. Na região Nordeste, sinais clínicos desta enfermidade foram relatados em 51,2% dos rebanhos<sup>5</sup>, enquanto no estado do Rio Grande do Sul este percentual é de 30,8%<sup>6</sup>. A mastite em pequenos ruminantes ocorre durante todo ano, não havendo variação sazonal da doença. Contudo, podem-se observar maiores índices de prevalência em propriedades com maior produção leiteira ou em períodos chuvosos, em decorrência do aumento no número de vetores<sup>5,7</sup>.

Na espécie caprina, o contágio vertical é difícil de ocorrer, e o surgimento da mastite é favorecido pelos fatores que intervêm na transmissão horizontal dos patógenos. Isto se deve as particularidades de defesa da glândula mamária caprina, que proporciona uma maior resistência às infecções ambientais devido a um maior

percentual de polimorfonucleares neutrófilos<sup>8</sup>. Com relação a etiologia da mastite caprina, embora os SCN sejam considerados patógenos maiores da mastite em pequenos ruminantes, os mecanismos de patogenicidade nos quadros subclínicos da enfermidade ainda são desconhecidos<sup>3</sup>.

Os lentivírus também são conhecidos como agentes infecciosos para cabras, porém em decorrência do elevado número de animais assintomáticos, estes agentes não são considerados como patógenos clássicos das infecções intramamárias nos pequenos ruminantes<sup>9</sup>. A prevalência é maior em rebanhos leiteiros e os sinais clínicos são mais evidentes em animais velhos<sup>10</sup>. Birgel Junior et al.<sup>11</sup> analisaram a influência da infecção pelo vírus da “Caprine Arthritis Encephalitis” (CAE) nas características físico-químicas e celulares do leite de caprinos, sendo evidenciada uma significativa influência da infecção pelo vírus da CAE na composição do leite, com os valores de eletrocondutividade, teores de cloretos e a CCS, sendo maiores nas cabras infectadas.

Os estudos voltados para os aspectos epidemiológicos das enfermidades são bastante relevantes, sendo o ponto de partida para a adoção de medidas sanitárias dentro da propriedade. Caldas, Santana e Caetano<sup>12</sup>, em estudo sobre a ovinocaprinocultura em 2.096 propriedades no nordeste da Bahia, observaram que os problemas sanitários são diversos. Os mesmos autores relatam, ainda que, as doenças infecciosas e parasitárias constituem sério entrave ao desenvolvimento desta atividade, por representarem parcela considerável das perdas em animais, com grande repercussão econômica.

Dentre os principais fatores condicionantes da mastite estão: resistência natural da glândula mamária, estágio da lactação, hereditariedade, idade do animal, espécie, infectividade e patogenicidade do agente etiológico, ordenha, manejo, clima e nutrição. Dentre estes, fatores como ordenha e manejo merecem atenção especial em função da capacidade de difusão da enfermidade que têm dentro do rebanho. Entretanto, todos os fatores devem ser analisados no conjunto, devendo-se considerá-los como pontos fundamentais no direcionamento e implantação de medidas preventivas e de controle, ou ainda, na identificação de falhas em programas de controle já instalados nas criações leiteiras<sup>13</sup>.

Outros fatores determinantes incluem o período de lactação, sendo que há maior susceptibilidade do animal quanto à mastite do tipo contagiosa, enquanto no período seco tem-se maior frequência da mastite ambiental<sup>13</sup>. A fase de desmame

proporciona uma série de mudanças no tecido mamário, dando-se início ao período de involução mamária. No Brasil, estudo de campo demonstrou que o período de involução ativa não representa um período crítico para o surgimento de infecções intramamárias em ovinos Santa Inês<sup>14</sup>, embora o inverso já tenha sido observado<sup>15</sup>. Quanto à idade, animais mais velhos são mais susceptíveis a infecção devido às sucessivas mudanças do tecido mamário<sup>16</sup>.

Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos sobre caracterização zoonosológica nos rebanhos brasileiros, especialmente estudos epidemiológicos que determinem a incidência e prevalência das principais enfermidades. Além disso, é relevante o desenvolvimento e uso de métodos moleculares para identificação e tipagem dos patógenos e, ainda, a utilização de técnicas para diagnóstico diferencial e quantificação dos prejuízos oriundos dos problemas sanitários<sup>5</sup>.

Considerando-se a importância das pesquisas sobre os aspectos epidemiológicos que favorecem a entrada de patógenos nas criações animais, objetivou-se identificar os principais fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras leiteiras criadas na região do sertão da Bahia.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1 Local e animais de estudo**

O estudo foi realizado em propriedades do estado da Bahia que ocupa 6,64% do território nacional. O estado da Bahia possui uma área de 564.692,67 km<sup>2</sup> e 68,7% encontra-se na região semi-árida, enquanto que o litoral mede 1.183 km. Seu vasto território abriga muitos tipos de ecossistemas. O clima tropical predomina em todo estado, apresentando distinções apenas quanto aos índices de precipitação em cada uma das diferentes regiões. No semi-árido, região onde o estudo foi realizado, a temperatura é quente e a vegetação predominante é a caatinga<sup>17</sup>.

Foi realizada amostragem não-probabilística por conveniência<sup>18</sup>. Foram visitadas 13 propriedades durante a realização do experimento, sendo criatórios de caprinos leiteiros, com animais de diferentes idades, estágios de lactação, sistemas de criação e utilização de ordenha manual. Coletou-se leite de 320 cabras, perfazendo um total de 640 metades mamárias.

### **2.2 Coleta das amostras de leite**

Foram coletadas amostras de leite após prévia anti-sepsia dos tetos com álcool a 70%. O leite foi coletado em frascos estéreis, previamente identificados e colocados em caixas isotérmicas com gelo e encaminhados imediatamente ao laboratório de Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) para processamento.

### **2.3 Cultura Bacteriana**

Uma alíquota de 10µl de cada amostra foram semeados com alça calibrada em cada quadrante de uma placa de Blood Agar Base acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Foram consideradas significativas as placas que apresentavam uma colônia hemolítica e/ou a presença de quatro colônias não

hemolíticas ou mais com as mesmas características morfológicas. As bactérias foram identificadas de acordo com características morfológicas, bioquímicas e tintoriais de acordo com Quinn et al.<sup>19</sup>.

#### **2.4 Diagnóstico da Caprine Arthritis Encephalitis (CAE)**

Para a pesquisa de anticorpos anti-CAE, foram coletadas 351 amostras de sangue mediante venopunção da jugular, utilizando-se agulhas hipodérmicas descartáveis calibre 40x12 mm. No laboratório de Microbiologia e Imunologia da UNIVASF, as amostras foram centrifugadas durante cinco minutos em centrífuga comum a 5000 rpm, para a obtenção do soro e transportadas para microtubos com capacidade de 1,5 mL e armazenadas a - 20°C até o momento do uso.

As amostras foram submetidas ao teste de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), segundo Crawford e Adams<sup>20</sup>, utilizando um "kit" da Biovetech – Indústria e Comércio de Produtos Biotecnológicos Ltda. ME., que tem como antígeno a proteína do capsídeo p28 do CAE. Os reagentes foram distribuídos na seguinte sequência: nos poços periféricos, de maneira alternada, 30 µL do soro teste e 10 µL do soro controle positivo; e 10 µL do antígeno na cavidade central. Como reagente positivo considerou-se o soro que determinou nítida formação de linhas de precipitação de coloração esbranquiçada, correspondente às zonas de contato antígeno-anticorpo. Linhas idênticas formadas entre o soro controle e o antígeno também foram observadas. Essas linhas de precipitação foram evidenciadas pela contraposição de luz artificial, na porção inferior das placas em câmara escura.

#### **2.5 Estudo dos fatores de risco**

Para o estudo dos fatores de risco associados à infecção foi realizado um estudo transversal para determinar a frequência de caprinos e positivos na lactocultura e testar a relação entre o status sanitário da glândula mamária e alguns possíveis fatores de risco. Aplicou-se um questionário constituído por perguntas fechadas, relativas a informações sobre o criador, características gerais da propriedade como espécie, raça (pura ou mestiça), tipo de produção (leite ou carne), sistema de manejo (intensivo, semi-intensivo ou extensivo) e aspectos sanitários

(frequência de limpeza das instalações, presença de assistência veterinária) (Anexo 1). O questionário foi aplicado pelo mesmo entrevistador.

## **2.6 Análise estatística**

Empregou-se a estatística descritiva por meio da distribuição das frequências relativa e absoluta para os achados referentes ao “status” sorológico do animal.

A análise de fatores de risco foi efetuada por meio da análise univariada, onde cada variável independente foi cruzada com a variável dependente (infecção da glândula mamária). Os dados epidemiológicos foram analisados utilizando-se o programa *SPSS for Windows* versão 13.0. Para efeito estatístico cada animal foi considerado como unidade de análise. Obteve-se a odds ratio (OR), considerando um intervalo de confiança (IC) de 95% (Mantel – Haenszel =  $p < 0,05$ )<sup>18</sup>.

### 3. Resultados

Das treze propriedades visitadas, apenas duas não apresentaram animais positivos na lactocultura. A frequência de animais positivos para o exame microbiológico do leite foi de 29,06% (93/640), sendo que o percentual de amostras positivas foi de 18,44% (118/640) (Tabela 1). O percentual de animais positivos nas diferentes propriedades variou entre 0,0 e 43,34%.

Foram isolados 118 micro-organismos, sendo que o gênero *Staphylococcus* foi o frequente, com um percentual de 77,1% (91/118), seguido do *Micrococcus* spp. 12,7% (15/118), enterobactérias 5,1% (6/118), *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. com 2,5% (3/118) cada um.

Na pesquisa de anticorpos contra a CAE, observou-se que 2,2% (8/351) dos animais foram positivos.

**Tabela 1.** Frequências absoluta e relativa dos animais e amostras positivas para a lactocultura em rebanhos de cabras leiteiras no sertão da Bahia, 2009

Propriedade	Animais (n)	Amostras (n)	Animais Positivos		Amostras Positivas	
			Freq. Absoluta	Freq. Relativa	Freq. Absoluta	Freq. Relativa
1	19	38	5	26,32	6	15,79
2	13	26	1	7,69	1	3,85
3	41	82	19	46,34	24	29,27
4	24	48	11	45,83	13	27,08
5	19	38	6	31,58	7	18,42
6	41	82	16	39,02	21	25,61
7	4	8	0	0,00	0	0,00
8	17	34	0	0,00	0	0,00
9	26	52	8	30,77	12	23,08
10	46	92	9	19,57	9	9,78
11	40	80	8	20,00	10	12,50
12	18	36	5	27,78	7	19,44
13	12	24	5	41,67	8	33,33
<b>Total</b>	<b>320</b>	<b>640</b>	<b>93</b>	<b>29,06</b>	<b>118</b>	<b>18,44</b>

Com relação aos fatores de risco estudados, observou-se que a frequência de animais positivos no exame microbiológico do leite foi de 28,7% para aqueles criados em áreas até 50 ha e 29,5% para animais provenientes de propriedades com mais de 50 ha, porém sem associação estatística significativa ( $p>0,05$ ) (Tabela 02).

Para a variável raça, observou-se associação estatística significativa ( $p<0,05$ ), obtendo-se maior positividade nas propriedades onde predominavam os animais mestiços (OR = 1,90), com frequências de 23,9% e 37,4% para animais de raça pura e mestiços, respectivamente.

Na avaliação da variável produção de leite, propriedades com faixa de produção entre 0 - 25 e 26 – 50 L/dia, apresentaram 27,2% e 31,1%, de animais positivos respectivamente, porém sem associação estatística significativa ( $p>0,05$ ). Com relação à frequência de limpeza das instalações, observou-se maior positividade naquelas propriedades onde esta prática era realizada diariamente (34,2%), quando comparadas com aquelas que a realizavam semanalmente (26,0%), contudo sem associação estatística significativa ( $p>0,05$ ).

Os caprinos de propriedades com e sem assistência veterinária apresentaram frequências de positividade para a mastite, respectivamente de 25,6 e 36,6%. Foi observada significância estatística para esta variável ( $p<0,05$ ), sendo a OR igual a 1,68. Quanto a variável local de ordenha, observou-se que a positividade para a mastite foi menor quando se realizava a ordenha em plataforma (27,5%), enquanto que naquelas propriedades onde os animais eram ordenhados no próprio curral obteve-se maior frequência de animais positivos (40,0%) (OR = 1,75), porém sem uma associação estatística significativa ( $p>0,05$ ).

Para a variável tamanho do rebanho, obteve-se maior positividade nas propriedades com rebanhos até 50 animais (30,3%), enquanto que naquelas com rebanhos maiores (>50 animais), observou-se uma positividade de 28,4%. Não foi observada uma associação estatística significativa para esta variável ( $p>0,05$ ). Os caprinos provenientes de propriedades com e sem foco de CAE apresentaram frequências de positividade para a mastite, respectivamente de 25,7 e 31,5%, não sendo observada associação estatística significativa para esta variável ( $p>0,05$ ).

**Tabela 02.** Fatores de risco associados ou não à mastite para caprinos criados na região do Sertão da Bahia, 2009

Variável	N.º de animais	Positivo (%)	OR <sup>a</sup>	IC <sup>b</sup> 95%	P
<b>ÁREA</b>					
Até 50 ha	188	54 (28,7)	0,96	0,63 – 1,69	0,873
> 50 ha	132	39 (29,5)			
<b>RAÇA PREDOMINANTE</b>					
Um tipo racial	197	47 (23,9)	1,90	1,16 – 3,11	<b>&lt;0,009*</b>
> 2 tipos raciais	123	46 (37,4)			
<b>PRODUÇÃO LEITEIRA</b>					
0-25	169	46 (27,2)	1,20	0,74 – 1,95	0,442
26-50	151	47 (31,1)			
<b>LIMPEZA DAS INSTALAÇÕES</b>					
Diária	120	41 (34,2)	0,67	0,41 – 1,10	0,119
Semanal	200	52 (26,0)			
<b>ASSISTÊNCIA VETERINÁRIA</b>					
Possui	219	56 (25,6)	1,68	1,01 – 2,79	<b>0,043*</b>
Não Possui	101	37 (36,6)			
<b>LOCAL DE ORDENHA</b>					
Plataforma	280	77 (27,5)	1,75	0,88 – 3,48	0,103
Curral	40	16 (40,0)			
<b>TAMANHO DO REBANHO</b>					
Até 50 animais	109	33 (30,3)	0,91	0,55 – 1,51	0,118
> 50 animais	211	60 (28,4)			
<b>FOCO DE CAE</b>					
Sim	136	35 (25,7)	0,75	0,45 – 1,23	0,260
Não	184	58 (31,5)			

<sup>a</sup> Odds Ratio;

<sup>b</sup> Intervalo de confiança.

#### 4. Discussão

Os micro-organismos isolados neste estudo pertencem ao gênero *Staphylococcus* spp. o que corrobora vários outros estudos sobre a etiologia da mastite caprina no Brasil<sup>21,22,23,24,25,26</sup>. Uma das principais características da mastite diz respeito à diversidade dos agentes com potencial patogênico. Dentre estes, destacam-se os *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN), que para outras espécies animais são considerados patógenos menores. Têm-se ainda as bactérias do gênero *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, a *Mannheimia haemolytica* e algumas espécies de fungos, porém são menos freqüentes<sup>3,27,28</sup>.

Observou-se uma positividade de 2,2% para a CAE. Estes valores foram maiores no estudo de Almeida et al.<sup>29</sup> no estado da Bahia, os quais observaram que das 1605 amostras de hemo-soros examinadas pela prova de IDGA, 215 (13,4%) foram positivas.

A doença apresenta-se mundialmente distribuída, ocorrendo sobretudo nos países em que a caprinocultura leiteira é bastante desenvolvida, com soroprevalência variando de 65 a 81%. Apesar do elevado número de animais positivos, a incidência da doença clínica é de cerca de 10%<sup>30</sup>. Silva et al.<sup>31</sup>, realizaram um estudo no estado do Rio Grande do Norte e verificaram uma prevalência de 11%. Melo e Franke<sup>32</sup> encontraram uma prevalência de 40,73% (101/248) no estado do Ceará. No estado de Pernambuco, Oliveira et al.<sup>33</sup> pesquisaram a presença de anticorpos anti-CAE, coletando amostras de animais nos abatedouros, observando freqüência 3,8% de um total de 672 animais.

É difícil avaliar as perdas decorrentes da doença nos rebanhos estudados, por se tratar de uma doença de evolução lenta e caráter crônico. Os resultados até o momento são contraditórios, mas indicam que ocorre diminuição da vida produtiva e da produção leiteira, menor duração do período de lactação, predisposição da glândula mamária às infecções bacterianas, retardo no crescimento e aumento da mortalidade de crias, além da diminuição da eficiência reprodutiva<sup>30</sup>.

Vários são os trabalhos de pesquisa realizados no sentido de adequação de medidas para o controle da CAE. Em virtude da inexistência de vacinas para prevenção da enfermidade, as medidas profiláticas são de extrema importância para prevenir a ocorrência e adequar condições de convivência com a enfermidade<sup>10</sup>.

Observou-se um maior percentual de positividade para a mastite quando os animais eram provenientes para animais provenientes de áreas com tamanho acima de 50 ha, porém sem associação estatística significativa ( $p > 0,05$ ). Sabe-se que a aglomeração de animais pode aumentar os índices de mastite na propriedade, entretanto, a criação de animais em áreas maiores, alagadiças e/ou sombreadas, com forragem grosseira, favorece a multiplicação de micro-organismos ambientais e, conseqüentemente, a probabilidade de infecções<sup>13</sup>.

Para a variável raça, observou-se maior positividade nas propriedades onde predominavam os animais mestiços. Ao longo do tempo, empregou-se a ferramenta do melhoramento genético, com o objetivo de aumentar os índices de produção de leite. Entretanto, o incremento obtido na produtividade média leiteira foi acompanhado por um aumento na susceptibilidade às infecções intramamárias<sup>34</sup>. No presente estudo, observou-se o inverso, com a variável raça pura mostrando-se ser um fator de proteção para a mastite. Os proprietários que participaram deste estudo pertenciam a uma associação local, sendo todos considerados pequenos agricultores. Aqueles que haviam comprado animais de maior potencial zootécnico dispensavam maiores cuidados, especialmente no momento da ordenha, com melhores instalações e condições higiênico-sanitárias. Do contrário, aqueles que tinham um rebanho mais heterogêneo, com animais mestiços, às vezes faziam a ordenha no interior do aprisco, justificando assim, o maior percentual de animais positivos nestas circunstâncias.

Para a variável produção de leite, propriedades com faixa de produção entre 26-50 L/dia, apresentaram 31,1% de animais positivos para mastite, porém sem significância estatística. Animais com maior produção leiteira apresentam maior probabilidade de infecção e isso provavelmente ocorreu devido a exposição aos diferentes patógenos. De forma geral, na lactação e no processo de ordenha há maior susceptibilidade de difusão de mastite contagiosa, porém no período seco e intervalos entre ordenhas a susceptibilidade recai sobre mastites ambientais<sup>13</sup>.

Com relação à frequência de limpeza das instalações, observou-se maior positividade nas propriedades onde esta prática era realizada diariamente (34,2%), contudo sem diferença significativa. Neste estudo, o principal micro-organismo isolado foi o *Staphylococcus* spp., um patógeno que coloniza a glândula mamária, portanto, não relacionado com as condições ambientais<sup>3,35</sup>. Na mastite contagiosa a transmissão ocorre quase que exclusivamente durante a ordenha, sendo que as

principais fontes de infecção são as mãos do ordenhador, pano empregado na secagem dos tetos e teteiras<sup>36</sup>.

Observou-se uma associação estatística significativa para a variável assistência veterinária, sendo a OR = 1,68. Assim, a ausência da assistência técnica constitui fator de risco para o aumento dos casos de mastite nas propriedades, demonstrando a importância do Médico Veterinário para orientar o produtor a respeito das principais medidas de controle e profilaxia voltadas para esta e outras enfermidades.

Considerando-se a variável local de ordenha, observou-se que a positividade para a mastite foi menor quando se realizava a ordenha em plataforma (27,5%), embora sem uma associação estatística significativa. O local de ordenha é de fundamental importância para a prevenção da mastite, especialmente a ambiental. Embora a mastite ambiental não tenha sido o principal problema encontrado neste estudo, animais criados em ambientes com más condições de higiene são expostos continuamente a condições estressantes, o que afeta de forma significativa seu desempenho produtivo. Em tais condições, além da maior exposição aos patógenos, há um comprometimento da capacidade de resistência do animal<sup>36</sup>. Além disso, quando a ordenha era realizada no curral, os criadores eram menos criteriosos quanto aos procedimentos de limpeza. Sabe-se que há maior facilidade de transmissão de patógenos entre animais e até no mesmo animal quando os procedimentos antes e após a ordenha são inadequados, tais como preparação da glândula mamária para a ordenha (lavagem e secagem)<sup>13</sup>.

Para a variável tamanho do rebanho, obteve-se maior positividade nas propriedades com rebanhos até 50 animais, quando comparados com aquelas que tinham rebanhos maiores, porém não foi observada uma associação estatística significativa para esta variável. Geralmente, propriedades com rebanhos maiores apresentam elevadas taxas de prevalência da mastite, em decorrência do maior grau de dificuldade encontrado durante a execução das atividades de controle e profilaxia de rotina. Neste estudo, os criadores com maiores rebanhos apresentavam melhores instalações e condições de manejo dos animais, o que pode acarretar em menores taxas de mastite.

Observou-se um maior percentual de animais de positivos para a mastite em rebanhos onde não existia soropositivos para a CAE. Embora se saiba da possibilidade de infecções oportunistas naqueles soropositivos para CAE<sup>37</sup>, o que

poderia incrementar o número de casos de mastite, a prevalência da CAE nos rebanhos onde os animais soropositivos foram encontrados foi consideravelmente baixa.

Não foram avaliados alguns fatores considerados importantes<sup>13</sup>, tais como sistema de criação, presença de moscas e utilização de pré e pós *dipping*, em virtude das propriedades apresentarem as mesmas condições para estas variáveis. Lima Júnior, Nader Filho e Vianni<sup>4</sup> estudaram os fatores condicionantes da mastite subclínica em caprinos, sendo observada maior prevalência em propriedades que empregavam o sistema intensivo de criação e utilizavam pano para lavagem do úbere antes da ordenha. Além disso, observou-se associação positiva entre a presença da doença e condições precárias de higiene das instalações e equipamentos. Fêmeas mais velhas e os estágios finais de lactação constituíram fatores de risco para a infecção, não sendo observada susceptibilidade diferenciada para a variável raça.

Moroni et al.<sup>38</sup> realizaram um estudo sobre os fatores de risco para as infecções intramamárias em rebanhos de cabras leiteiras, sendo observado que a mastite foi mais frequente entre as fêmeas de terceira e quarta ordem de parto, e quanto ao estágio de lactação, observou-se maior positividade para animais que estavam há vários dias em lactação. Ameh e Tari<sup>39</sup> estudando também os fatores predisponentes para mastite caprina, encontraram uma associação positiva entre a mastite e a presença de ferimentos na teta, porém não foram encontradas associações entre o diâmetro da teta, distância da teta – solo e a mastite.

A determinação dos índices de prevalência das mastites em um rebanho pode auxiliar na avaliação do “status” sanitário da glândula mamária dos animais do rebanho, fornecendo uma idéia precisa do risco de infecção do mesmo<sup>40</sup>. Além disso, quando se tem uma estimativa do risco de infecção torna-se possível elaborar programas de controle e vigilância, reduzindo o impacto econômico ocasionado pelas alterações na glândula mamária<sup>21</sup>.

Estudos acerca dos fatores de risco que favorecem o aparecimento da mastite ainda são necessários, pois estes estudos constituem pré-requisitos para implantação de programas de controle e profilaxia voltados para a mastite caprina.

## 5. Conclusões

- A CAE ainda não se encontra disseminada nos rebanhos avaliados, apresentando baixa prevalência, porém estudos visando o conhecimento da participação da CAE nos casos de mastite caprina ainda são necessários;
- A realização da ordenha em plataforma é uma medida que diminui a positividade para a mastite;
- A ausência da assistência técnica e a presença de animais mestiços, constituem fatores de risco para a mastite em cabras leiteiras.

**Agradecimentos:** à FACEPE pela concessão da bolsa de pós-graduação (R.M. Peixoto), a FAPESB pela concessão da bolsa de iniciação científica (A.F. Souza Júnior) e ao IDR sisal pelo apoio financeiro e cedência das instalações.

## 6. Referências Bibliográficas

1. VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; XIMENES, L. F. **Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi – áridas do Nordeste**. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 1998. 50p.
2. ANDERSON, D.E.; HULL, B.H.; PUGH, D.G. Enfermidades da glândula mamária. In: PUGH, D.G. (Ed). **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. p.379-399.
3. CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J.C. [...]. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.68, p.145-153, 2007.
4. LIMA JÚNIOR, A.D., NADER FILHO, A., VIANNI, M.C.E. Fatores condicionantes da mastite subclínica caprina em criatórios do Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.47, n.4, p.463-474, 1995.
5. PINHEIRO, R.R. et al. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.52, n.5, p.534-543, 2000.
6. MURICY, R.F. **Ocorrência de mamite subclínica em caprinos e qualidade higiênicosanitária do leite produzido em propriedades associadas à Coopertativa Languiru, Teutônia - RS**. 2003. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.
7. ALBIZU, I.; BASELGA, R. Sheep and goat mastitis: seasonal variation in aetiology. **Albeitar**, v.53, p.28, 2002.
8. PAAPE, M.J.; CAPUCO, A.V. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. **Journal Animal Science**, v.75, p.556-565, 1997.

9. TURIN, L.; PISONI, G.; GIANNINO, M.L., ANTONINI, M. [...]. Correlation between milk parameters in CAEV seropositive and negative primiparous goats during an eradication program in Italian farm. **Small Ruminant Research**. v.57, p.73–79, 2005.
10. CALLADO, A.K.C.; CASTRO, R.S.; TEIXEIRA, M.F.S. Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-visna): revisão e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.3, p.87-97, 2001.
11. BIRGEL JUNIOR, E.H.; CESTARI, V.; SAMPAIO, R.M.; LARA, M.C.C.S.H. [...]. Influência da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina nas características físico-químicas e celulares do leite de caprinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.3, p.199-206, 2007.
12. CALDAS, E.M.; SANTANA, A.F.; CAETANO, A.L.S. Estudo da ovinocaprinocultura na região Nordeste do Estado da Bahia. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFBA**, v.12, p.91-98, 1989.
13. PRESTES, D. S.; FILATI, A.; CECIM, M. S. Suscetibilidade à mastite: Fatores que a influenciam - uma revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia Veterinária e Agronomia**, v.9, n.1, p-48-59, 2003.
14. BLAGITZ, M.G.; BATISTA, C.F.; SOUZA, F.N.; BENITES, N.R.; [...]. Perfil celular e microbiológico do leite de ovelhas Santa Inês no período lactante e pós-desmame. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.9, p.417-422, 2008.
15. SARATSI, P.; LEONTIDES, L.; TZORA, A.; ALEXOPOULOS, C.; [...]. Incidence risk and aetiology of mammary abnormalities in dry ewes in flocks in Southern Greece. **Preventive Veterinary Medicine**, v.37, p.173-183, 1998.
16. AL-MAJALI, A.M.; JAWABREH, S. Period prevalence and etiology of subclinical mastitis in Awassi sheep in southern Jordan. **Small Ruminant Research**, v.47, p.243-248, 2003.

17. IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em 22 de setembro de 2009.
18. THRUSFIELD, M. V. **Epidemiologia Veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2004. 556p.
19. QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Wolfe, 1994. 648p.
20. CRAWFORD, T.B.; ADAMS, D.S. Caprine arthritis-encephalitis: Clinical features and presence of antibody in selected goat populations. **Veterinary Medical Association**, v.178, n.7, p.713-719, 1981.
21. MOTA, R.A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.3, p.57-61, 2008.
22. LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; BALDINI, S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.13, n.1, p.51-54, 2006.
23. COUTINHO, D.A.; COSTA, J.N.; RIBEIRO, M.G.; TORRES, J.A. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.7, n.2, p.139-151, 2006.
24. DOMINGUES, P.F.; LUCHEIS, S.B.; SERRÃO, L.S.; FERNANDES, L.S.; [...]. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. **ARS Veterinária**, v.22, n.2, p.146-152, 2006.
25. ALMEIDA, J.F. **Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra *in natura***. 2009. 106p. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2009.

26. BOLSANELLO, R.X.; HARTMAN, M.; DOMINGUES, P.F.; MELLO JÚNIOR, A.Z. [...]. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácia submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedade de Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p.221-227, 2009.
27. LAS HERAS, A.; DOMÍNGUEZ, L.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J.F. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in dairy ewes of the Madrid region. **Small Ruminant Research**, v.32, p.21-29, 1999.
28. BERRIATUA, E.; ZILUAGA, I.; MIGUEL-VIRTO, C.; URIBARREN, P. [...]. Outbreak of subclinical mastitis in a flock of dairy sheep associated with *Burkholderia cepacia* complex infection. **Journal Clinical Microbiology**, v.39, p.990–994, 2001.
29. ALMEIDA, M.G.A.R.; ANUNCIAÇÃO, A.V.M.; FIGUEREDO, A.; MARTINEZ, T.C.N.; [...]. Dados sorológicos sobre a presença e distribuição da artrite-encefalite caprina (CAE) no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.1, n.3, p.78-83, 2001.
30. ROWE, J.D.; EAST, N.E. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection. **Veterinary Clinical North America: Food Animal Practice**, v.13, p.35-53, 1997.
31. SILVA, J.S.; CASTRO, R.S.; MELO, C.B.; FEIJÓ, F.M.C. Infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina no Rio Grande do Norte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.6, p.726-731, 2005.
32. MELO, A.C.M.; FRANKE, C.R. Soroprevalência da infecção pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) no rebanho de caprinos leiteiros da região da grande Fortaleza, Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v.27, n.1, p.113-117, 1997.
33. OLIVEIRA, M.M.M.; CASTRO, R.S.; CARNEIRO, K.L.; NASCIMENTO, S.A.; [...]. Anticorpos contra lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos e ovinos em abatedouros do estado de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, v.5, 947-949, 2006.

34. HURLEY, W.L. Factors affecting susceptibility to mastitis. **Lactation biology**. Disponível: <http://classes.ansci.illinois.edu/ansc438/mastitis/susceptibility.html>. Acesso em: 22 de Setembro de 2009.
35. BERGONIER, D.; DE CREMOUX, R.; RUPP, R., LAGRIFFOUL, G., [...]. Mastitis of dairy small ruminants. **Veterinary Research**, v.34, p.689-716, 2003.
36. FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2001. 175p.
37. ELLIS J.A.; RUSSEL H.I.; DU C.W. Effect of selected cytokines on the replication of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and ovine lentivirus in pulmonary macrophages. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.40, p.31-47, 1994.
38. MORONI, P.; PISONI, G.; RUFFO, G.; BOETTCHER, P.J. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. **Preventive Veterinary Medicine**, v.69, p.163-173, 2005.
39. AMEH, M.J.A.; TARI, I.S. Observations on the prevalence of caprine mastitis in relation to predisposing factors in. **Small Ruminant Research**, v.35, p.1-5, 2000.
40. THURMOND, M. C. Epidemiologic methods in mastitis treatment and control. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 9, n. 3, p. 435-444, 1993.

## **CAPÍTULO 4**

**Potencial antibacteriano de plantas nativas do bioma caatinga frente a isolados bacterianos de mastite caprina e ovina  
(a ser submetido para a Revista Veterinary Microbiology)**

## Potencial antibacteriano de plantas nativas do bioma caatinga frente a isolados bacterianos de mastite subclínica caprina e ovina

Rodolfo de Moraes Peixoto<sup>1</sup>, Mateus Matiuzzi da Costa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Aluno do programa de Pós-Graduação em Ciência animal, UNIVASF;

<sup>2</sup> Professor adjunto, Colegiado de Zootecnia, UNIVASF.

### Resumo

Objetivou-se avaliar o potencial antibacteriano de plantas do bioma caatinga do semi-árido pernambucano contra *Staphylococcus* spp. isolados de casos de mastite subclínica em pequenos ruminantes. Foram utilizados seis extratos etanólicos de plantas existentes no bioma caatinga do semi-árido Pernambucano, como *Encholirium spectabile* Mart., *Bromelia laciniosa* Mart., *Neoglaziovia variegata* Mez., *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C.Smith, *Hymenaea courbaril* L. e *Selaginella convoluta* Spring. A atividade antibacteriana foi testada contra 160 isolados de *Staphylococcus* oriundos de rebanhos leiteiros localizados em municípios dos estados de Pernambuco e Bahia. Observou-se que os extratos da *E. spectabile*, *B. laciniosa* e *N. variegata* apresentaram atividade antimicrobiana, com as seguintes médias para a concentração bactericida mínima: 11.379, 11.405 e 11.995 µg/mL, respectivamente. Observou-se maior atividade inibitória para as espécies *A. cearensis* e *H. courbaril*, que inibiram 88,1 e 99,4 % dos isolados, respectivamente. O extrato etanólico da *S. convoluta* apresentou o menor percentual de inibição, sendo igual a 15% (n=24/160). Considerando o potencial antibacteriano destas plantas do bioma caatinga frente à *Staphylococcus* isolados de casos de mastite subclínica em caprinos e ovinos, outros estudos sobre a atividade *in vivo* devem ser realizados.

**Palavras-chave:** atividade antibacteriana, plantas, bioma caatinga, terapia, mastite.

## Antibacterial potential of caatinga native plants against bacterial isolates from goat and sheep subclinical mastitis

### Abstract

The small ruminant breeding is growing in Brazil. In the Northeast region, the goat and sheep production is very important, used to differentiate the farm activities, and improve economic gains. Mastitis is the inflammation of mammary gland and can be separated in clinical or subclinical mastitis. The abusive use of antimicrobial drugs, the resistant bacteria selection, and the management conditions are important issues in veterinary medicine. The present study aims to determine antibacterial activity of extracts obtained of ethanol plants from caatinga biome on *Staphylococcus* spp. isolated from dairy goat mastitis. It was evaluated six extracts from plants of Pernambuco semi-arid region, including: *Encholirium spectabile* Mart., *Bromelia laciniosa* Mart., *Neoglaziovia variegata* Mez., *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C.Smith, *Hymenaea courbaril* L. and *Selaginella convoluta* Spring. The antibacterial activity was determined using 160 *Staphylococcus* spp. isolates achieved of dairy goat and sheep mastitis from herds in Pernambuco and Bahia State, Brazil. In this study it was determined antimicrobial activity in Bromeliaceae family plants, with respective media for Minimal Inhibitory Concentration (MIC): 11.379, 11.405 and 11.995 µg/mL, to *E. spectabile* Mart., *B. laciniosa* Mart. and *N. variegata* (Arruda) Mez., respectively. Highest antibacterial activity were determined in *A. cearensis* A.C.Smith and *H. courbaril* L. extracts, that showed inhibition of 88.1 e 99.4% of isolates, respectively. The ethanol extracts of *S. convoluta* Arn.(Spring) showed the lowest inhibitory percentage, of 15%. Considering the low costs of phytotherapics and the activity of Caatinga biome plants extracts additional studies focusing *in vivo* activity and chemistry characterization these plants are necessary.

**Keywords:** antibacterial activity, plants, caatinga biome, therapy, mastitis.

## 1. Introdução

A partir de 1950, quando os antibióticos passaram a ser amplamente utilizados, iniciou-se o fenômeno de resistência bacteriana. Desde então, o problema de resistência aos antibióticos passou a representar importância considerável em saúde pública. Essas infecções, além de contribuírem com significativas perdas econômicas, podem ser consideradas como um sério problema para a saúde pública (Barlett et al., 1992).

São vários os registros históricos sobre a utilização das plantas para tratamento de doenças em homens e animais. Um dos primeiros relatos sobre o uso de plantas medicinais pelo homem teve origem na Mesopotâmia e data de aproximadamente 2.600 a.C. Desde então, o emprego de plantas medicinais como instrumento de cura tem passado por diferentes paradigmas. Inicialmente, a utilização de plantas era realizada basicamente de forma empírica, sendo o conhecimento repassado entre as gerações. Ao longo do tempo, as plantas medicinais tornaram-se alvo de interesse para pesquisas científicas, aliando diferentes percepções sobre esse instrumento terapêutico (Leite, 2009).

Vem sendo demonstrada a atividade antibacteriana de extratos naturais de plantas (Schuch et al., 2008) e de alguns de seus compostos (Baskaran et al., 2009) frente aos isolados obtidos de casos de mastite. Dessa forma, alguns criadores e veterinários têm utilizado os fitoterápicos, tanto para a prevenção e tratamento da mastite. Observa-se uma predominância das práticas voltadas para o tratamento, com a utilização de soluções ou pomadas medicinais à base de ervas para uso local ou a administração de plantas verdes ou secas via oral (Schuch et al., 2008).

Os estudos sobre a atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas nativas têm sido relatados em muitos países tais como Brasil, Cuba, Índia, México e Jordânia. Estes países se caracterizam por possuírem uma flora diversificada e uma rica tradição na utilização de plantas medicinais para uso como antibacteriano ou antifúngico (Martínez et al., 1996; Navarro et al., 1996; Mahasneh et al., 1999; Ahmad e Beg, 2001; Duarte et al., 2005). Estudos *in vitro* visando a determinação do potencial antimicrobiano de plantas pertencentes à flora brasileira têm demonstrando resultados satisfatórios (Fernandes et al., 2005; Gonçalves et al., 2005; Granato et al., 2005; Oliveira et al., 2007; Ushimaru et al., 2007), porém

observa-se a descontinuidade destes estudos e uma fragmentação dos resultados, não permitindo muitos avanços na área.

Alguns trabalhos vêm demonstrando a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de plantas da flora nordestina, em especial do bioma caatinga. Pode-se citar a *Amburana cearensis* (Bravo et al., 1999), *Borreria verticillata* (L.) G. Mey (Peixoto-Neto et al., 2002), *Croton sonderianus* Muell. Arg. (McChesney, 1991), *Hymenaea courbaril* (Fernandes et al., 2005; Gonçalves et al., 2005; Granato et al., 2005; Valentim, 2006), *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Iwu et al., 1990), *Maytenus rigida* Mart. (Kloucek et al., 2005), *Pithecellobium cochliacarpum* (Gomez) Macbr. (Araújo et al., 2002), *Plumbago scandens* L. (Paiva et al., 2003), *Ximenia americana* L. (Maiga et al., 2005). Relatos acerca da utilização da *Amburana cearensis* e *Hymenaea courbaril* (Silva e Albuquerque, 2005; Souza e Felfili, 2006; Albuquerque e Oliveira, 2007), além de *Bromelia laciniosa* e *Selaginella convoluta* (Agra et al., 2008) são reportados no tratamento de diversas enfermidades em seres humanos, a exemplo das raízes de macambira (*B. laciniosa*) que são usadas popularmente contra hepatite e desarranjos intestinais, como diurético, enquanto que as folhas secas e pulverizadas são utilizadas na culinária como fonte de proteína (Agra et al., 2008).

Novais et al. (2003), avaliaram a atividade antimicrobiana em alguns extratos de espécies vegetais nativas ou endêmicas do semi-árido brasileiro, sendo encontrada atividade em sete plantas, dentre elas, uma pertencente ao gênero *Hymenaea*, que foi ativa contra isolados de *Staphylococcus aureus*, mas não contra *E. coli*.

Sendo assim, este trabalho teve por objetivo avaliar *in vitro* o potencial do extrato etanólico de seis plantas do bioma caatinga frente aos isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos de casos de mastite subclínica em caprinos e ovinos criados em municípios dos estados de Pernambuco e Bahia.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Coleta do material botânico**

Foram selecionadas as seguintes espécies vegetais: *Encholirium spectabile*, *Bromelia laciniosa*, *Neoglaziovia variegata*, *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril* e *Selaginella convoluta* (Anexo 2). O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF). O material vegetal foi coletado e identificado por um botânico responsável. As exsiccatas das espécies foram codificadas e depositadas no Herbário da Universidade Federal do Vale do São Francisco (HVASF).

### **2.2. Processamento do material vegetal**

O material vegetal foi dessecado em estufa com circulação forçada à temperatura média de 40°C durante três dias. Após a secagem e completa estabilização (eliminação de água, inativação de enzimas, etc.) o material foi processado em moinho, obtendo-se um material vegetal seco e pulverizado.

### **2.3. Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB)**

O material vegetal seco e pulverizado foi submetido à maceração exaustiva com etanol 95% em um recipiente de aço inoxidável. Foram feitas várias extrações num intervalo de 72 horas entre cada extração até completo esgotamento do material vegetal. A solução extrativa obtida passou por um processo de destilação do solvente em evaporador rotativo à pressão reduzida a uma temperatura média de 50 °C. Após este processo de evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB).

## 2.4. Testes de sensibilidade aos extratos de plantas

Foram utilizados 160 isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos de casos de mastite subclínica em ovinos e caprinos pertencentes aos rebanhos leiteiros localizados em municípios dos estados de Pernambuco e Bahia. Utilizou-se também uma cepa “methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*” (MRSA), conforme recomendado por Cos et al. (2006).

Pesou-se 0,25 g de cada extrato etanólico que foi diluído em 10 mL de água destilada estéril, obtendo-se uma solução estoque na concentração de 25 mg/mL. A determinação da concentração inibitória mínima, baseada no documento M7-A7 (CLSI, 2006), consistiu na distribuição de 200 µL de caldo Muller-Hinton em placas de microtitulação; a seguir, 200 µL da solução estoque do extrato eram acrescidos ao primeiro poço e, após homogeneização, transferia-se para o segundo e assim sucessivamente, sendo obtidas as seguintes concentrações finais: 12.500; 6.250; 3.125; 1.562,5; 781,2; 390,6; 195,3 e 97,6 µg/mL.

Na preparação do inóculo, colônias obtidas em Ágar Muller-Hinton, foram utilizadas na obtenção de uma suspensão bacteriana com turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland. Desta suspensão foi inoculado 10 µL nos poços de microplacas contendo a diluição do extrato de etanólico. O material foi incubado a 37°C por 24h, em condições de aerobiose. Determinou-se a concentração inibitória mínima (CIM) ao verificar a menor concentração do extrato capaz de causar inibição do crescimento bacteriano. A partir das diluições onde não foi verificado crescimento bacteriano visível retirou-se uma alíquota de 10 µl, semeando-se na superfície de ágar MH e incubando por 48 horas a 37 °C. Para a determinação da concentração bactericida mínima (CBM), a partir dos poços onde não havia o desenvolvimento de crescimento bacteriano visível, retirava-se uma alíquota de 10 µl, semeando-a na superfície do ágar Muller-Hinton. Após 48h de incubação a 35 °C, definiu-se a concentração bactericida mínima como a menor concentração do extrato etanólico em estudo capaz de causar a morte do inóculo. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

## 2.5. Análise estatística

Foram utilizados seis tratamentos, cada qual representado por um extrato etanólico, sendo eles: EEEs = extrato etanólico de *Encholirium spectabile*, EEBl = extrato etanólico de *Bromelia laciniosa*, EENv = extrato etanólico de *Neoglaziovia variegata*, EEAc = extrato etanólico de *Amburana cearensis*, EEHc = extrato etanólico de *Hymenaea courbaril* e EESc = extrato etanólico de *Selaginella convoluta*. Considerou-se cada isolado bacteriano uma unidade, sendo os ensaios realizados em triplicata. A média da CBM obtida de cada isolado bacteriano foi considerada como sendo a variável resposta. Foram considerados estatisticamente diferentes os resultados de atividade antimicrobiana que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade menor que 5 % ( $P < 0,05$ ) aplicando-se ANOVA, seguida das comparações múltiplas das médias da CBM pelo teste de Tukey. Foi utilizado o procedimento *General Linear Models* (GLM) do sistema *Statistical Analysis System* (SAS, 2003).

### 3. Resultados

Foram considerados os resultados da concentração bactericida mínima (CBM), uma vez que não foi possível a visualização da turvação na microplaca, em decorrência da coloração dos extratos. Para a cepa de MRSA, as seguintes médias para CBM foram observadas: *Encholirium spectabile* (10.417 µg/mL), *Bromelia laciniosa* (10.417 µg/mL), *Amburana cearensis* (12.500 µg/mL) e *Hymenaea courbaril* (10.417 µg/mL). Não foi encontrada atividade para a *Neoglaziovia variegata* e *Selaginella convoluta*.

Neste estudo, observou-se que as três espécies de plantas da família Bromeliaceae apresentaram atividade antimicrobiana, com as seguintes médias para a CBM: 11.379 µg/mL, 11.405 µg/mL e 11.995 µg/mL, respectivamente para a *E. spectabile*, *B. laciniosa* e *N. variegata* (Tabela 1). Quanto ao percentual de atividade, *E. spectabile* apresentou a maior atividade entre as bromeliáceas, inibindo 49,9 % (n=79/160) dos isolados de *Staphylococcus*.

Maior atividade inibitória foi propiciada pelas espécies *A. cearensis* e *H. courbaril*, que inibiram, respectivamente, 88,1 e 99,4% dos isolados de *Staphylococcus*. A média da CBM observada no extrato etanólico da *A. cearensis* foi de 10.934 µg/mL, enquanto que para o extrato etanólico da *H. courbaril* esta média é significativamente menor (2.811 µg/mL) do que a observada para os demais extratos. Houve inibição dos isolados de *Staphylococcus* dentro de uma faixa que variou de 390,62 a 12.500 µg/mL.

O extrato etanólico de *S. convoluta* apresentou o menor percentual de inibição, sendo igual a 15% (n=24/160). A média observada para CBM foi de 12.066 µg/mL, com uma faixa de variação entre 6.250 e 12.500 µg/mL.

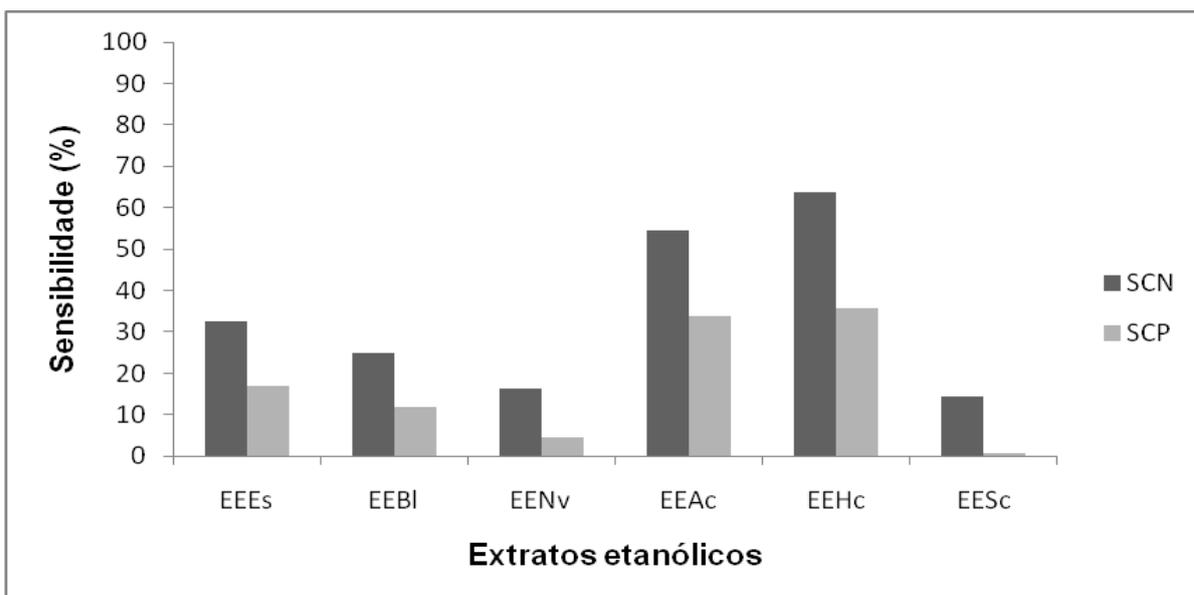
Considerando as espécies de *Staphylococcus* coagulase negativa e positiva (SCN e SCP), foram observados os seguintes percentuais de sensibilidade: *E. spectabile* (32,5 e 16,9%), *B. laciniosa* (25,0 e 11,9%), *N. variegata* (16,3 e 4,4%), *A. cearensis* (54,4 e 33,8%), *H. courbaril* (63,8 e 35,6%) e *S. convoluta* (14,4 e 0,6%), para SCN e SCP, respectivamente (Figura 1). Com relação às médias obtidas para a CBM, obteve-se os seguintes resultados para SCN e SCP: *E. spectabile* (10.958 e 12.191 µg/mL), *B. laciniosa* (11.433 e 11.343 µg/mL), *N. variegata* (11.859 e 12.500

µg/mL), *A. cearensis* (10.896 e 10.995 µg/mL), *H. courbaril* (2.600 e 3.189 µg/mL) e *S. convoluta* (12.228 e 8.333 µg/mL) (Figura 2).

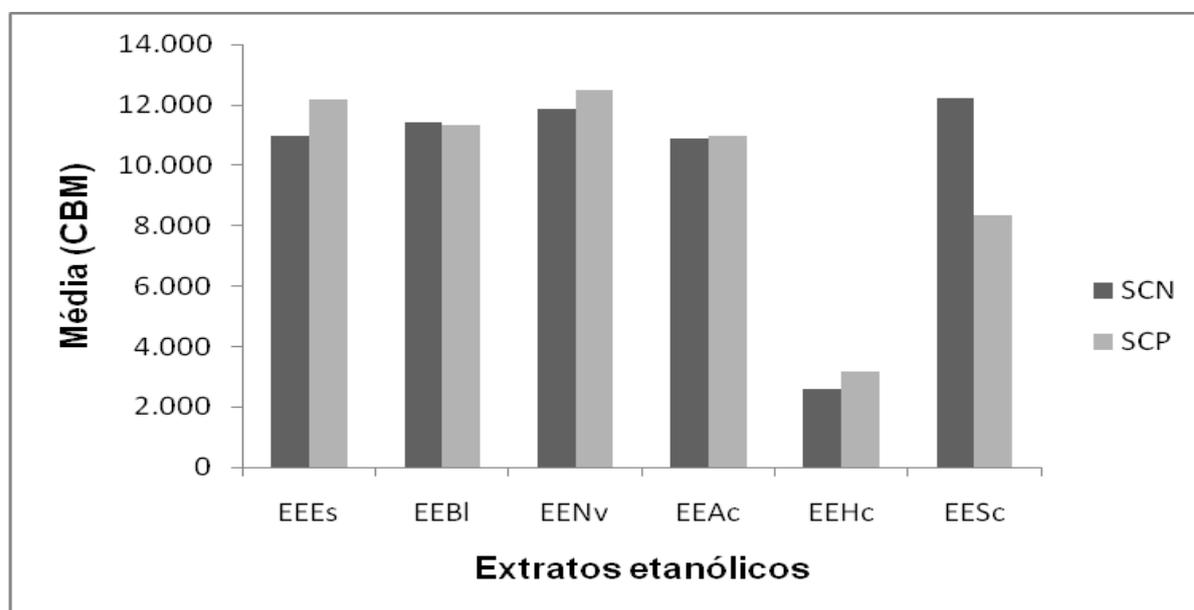
**Tabela 1.** Susceptibilidade de isolados de *Staphylococcus* aos extratos etanólicos de plantas da vegetação da caatinga

Família/Espécie	Atividade observada (%)	Concentração Bactericida Mínima	
		Faixa	Média (µg/mL)
<b>Bromeliaceae</b>			
<i>Encholirium spectabile</i>	49,9 (79/160)	3.125 – 12.500	11.379 <sup>b</sup>
<i>Bromelia laciniosa</i>	36,9 (59/160)	3.125 – 12.500	11.405 <sup>b</sup>
<i>Neoglaziovia variegata</i>	20,6 (33/160)	6.250 – 12.500	11.995 <sup>b</sup>
<b>Fabaceae</b>			
<i>Amburana cearensis</i>	88,1 (141/160)	3.125 – 12.500	10.934 <sup>b</sup>
<b>Caesalpinaceae</b>			
<i>Hymenaea courbaril</i>	99,4 (159/160)	390,62 - 12.500	2.811 <sup>a</sup>
<b>Selaginellaceae</b>			
<i>Selaginella convoluta</i>	15,0 (24/160)	6.250 - 12.500	12.066 <sup>b</sup>

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente ( $p > 0,05$ ).



**Fig. 1** – Percentuais de sensibilidade dos *Staphylococcus* coagulase negativa e positiva (SCN e SCP) para os extratos de plantas da vegetação de caatinga. Onde: EEEs = extrato etanólico de *Encholirium spectabile*; EEBI = extrato etanólico de *Bromelia laciniosa*; EENv = extrato etanólico de *Neoglaziovia variegata*; EEAc = extrato etanólico de *Amburana cearensis*; EEHc = extrato etanólico de *Hymenaea courbaril*; EESc = extrato etanólico de *Selaginella convoluta*.



**Fig. 2** – Médias da CBM dos extratos de plantas da flora da vegetação de caatinga frente *Staphylococcus* coagulase negativa e positiva (SCN e SCP). Onde: EEEs = extrato etanólico de *Encholirium spectabile*; EEBI = extrato etanólico de *Bromelia laciniosa*; EENv = extrato etanólico de *Neoglaziovia variegata*; EEAc = extrato etanólico de *Amburana cearensis*; EEHc = extrato etanólico de *Hymenaea courbaril*; EESc = extrato etanólico de *Selaginella convoluta*.

#### 4. Discussão

Para as plantas da família Bromeliaceae as médias obtidas para CBM oscilaram entre 11.379 µg/mL, 11.405 µg/mL e 11.995 µg/mL, para a *E. spectabile*, *B. laciniosa* e *N. variegata*, respectivamente. Aligianis et al. (2001) propuseram uma classificação para extratos vegetais com base nos resultados de CBM, considerando como: forte inibição - CBM até 500 µg/mL; inibição moderada – CBM entre 600 e 1.500 µg/mL e como fraca inibição - CBM acima de 1.600 µg/mL. Entretanto, esta classificação constitui um método subjetivo, não levando em consideração uma série de fatores que podem interferir no resultado da CBM, a exemplo da variabilidade e disponibilidade dos compostos bioativos presentes nos extratos. De acordo com Duarte (2007), ainda não existe um consenso sobre o nível de inibição aceitável para produtos naturais quando comparados com antibióticos padrões, tanto que alguns autores consideram somente resultados similares aos de antibióticos, enquanto outros consideram como bom potencial aqueles com níveis de inibições superiores.

A presença de atividade antimicrobiana nas três espécies de plantas pertencentes à família Bromeliaceae, embora em altas concentrações, indica a existência de compostos ativos contra isolados bacterianos. Diferentes classes de compostos orgânicos existentes em espécies desta família foram relatadas, incluindo triterpenos, esteróides, flavonóides, derivados de ácidos cinâmicos, gliceróis, entre outros (Manetti et al., 2009). Estes autores revisaram os metabólitos oriundos da família Bromeliaceae e constataram que poucas espécies foram estudadas quimicamente até o momento. Do ponto de vista farmacológico, também há poucos trabalhos descritos na literatura.

As espécies *A. cearensis* e *H. courbaril* propiciaram os maiores percentuais de inibição, respectivamente, com 88,1 e 99,4%. Vários estudos com a *A. cearensis* vêm demonstrando a sua atividade alelopática. Bravo et al. (1999) encontraram atividade biológica de *A. cearensis* contra *Escherichia coli* e *Shigella flexneri*. Outros trabalhos desenvolvidos com a casca do caule de *A. cearensis*, principal parte da planta utilizada na medicina popular, revelaram a presença profusa de compostos fenólicos na planta, principalmente flavonóides (Negri et al., 2004; Canuto e Silveira, 2006), podendo estes serem apontados, ao lado da cumarina como responsáveis

pela atividade farmacológica da espécie, conforme efeitos observados em testes realizados com as substâncias puras (Leal et al., 2003; 2005). Teste de toxicidade com *A. cearensis* revelou baixa toxicidade da planta, quando administrada por via oral, contudo o mesmo não foi observado para administração via intraperitoneal (Leal et al., 2003).

Observou-se melhor atividade antimicrobiana para o extrato etanólico da *H. courbaril*, com CBM média de 2.811 µg/mL. Estudos fitoquímicos detectaram a presença de diterpenos na resina exsudada pelo tronco e em extratos da casca de *H. courbaril* (Nogueira et al., 2001). Os terpenos apresentam várias atividades biológicas, como proteção contra infecções e ataques de insetos (Robbers et al., 1997). Algumas pesquisas têm demonstrado a presença de atividade antibacteriana *in vitro* para preparações obtidas de plantas do gênero *Hymenaea* (Marsaioli, 1975; Almeida Alves et al., 2000; Novais et al., 2003; Fernandes et al., 2005; Gonçalves et al., 2005; Granato et al., 2005; Valentim, 2006; Pereira et al., 2007). De acordo com Valentim et al. (2006), a *H. courbaril* é a espécie mais estudada dentro deste gênero, sendo relatada a presença e ação de oligossacarídeos e polissacarídeos. Estes mesmos autores estudaram a atividade antimicrobiana da *H. stigonocarpa*, uma planta do mesmo gênero da *H. courbaril*, sendo observada atividade frente *S. aureus*, porém em concentrações mais elevadas do que aquelas observadas neste estudo, sendo encontrados os seguintes valores: 32, 64 e 128 mg/mL para o extrato de acetato de etila, ciclohexano e etanólico, respectivamente.

Fernandes et al. (2005) avaliaram a presença de atividade antibacteriana *in vitro* do extrato hidroalcolico de algumas plantas, entre elas, *H. courbaril* frente a isolados de *Staphylococcus* provenientes da saliva de crianças, sendo que a CIM foi de 1,25 mg/mL, o que corresponde a 1.250 µg/mL, valor este inferior ao que foi encontrado neste trabalho (2.811 µg/mL). O potencial antimicrobiano do extrato hidroalcolico da *H. courbaril* também foi testado por Gonçalves et al. (2005), utilizando o método da difusão em ágar, frente a bactérias gram positivas e negativas oriundas de infecções clínicas em humano, sendo observado que tal extrato inibiu o crescimento de *S. aureus* e *Proteus mirabilis*. Resultados similares foram obtidos por Granato et al. (2005) quando avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato metanólico, obtido do rejeito resultante do beneficiamento da madeira, sendo encontrada atividade contra *Klebsiella pneumoniaea*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *Micrococcus luteus* e *S. aureus*. Pereira et al. (2007) avaliaram a toxicidade do óleo

essencial de *H. courbaril*, sendo que os valores obtidos (CL<sub>50</sub> de 8,83 µg/mL) foram inferiores ao limite estabelecido (1.000 µg/mL).

O extrato etanólico da *S. convoluta* apresentou o menor percentual de inibição, sendo igual a 15 %. De acordo com Hirai e Prado (2000), são escassos os estudos envolvendo a família Selaginellaceae no Brasil, porém é relatado o seu uso na medicina popular (Agra et al., 2008). A triagem fitoquímica preliminar desta espécie revelou a presença de esteróides, terpenóides e flavonóides, sendo verificada a presença de atividade analgésica e antiinflamatória (Moraes et al., 2006). Porém, para os isolados de *Staphylococcus* e dosagem de extrato etanólico testados, esta pteridófito parece ter baixa atividade antimicrobiana.

Observou-se maior percentual de sensibilidade dos SCN quando comparados aos SCP em todos os extratos observados. Este é um resultado importante, uma vez que o fenômeno de resistência tem sido observado às diversas drogas antimicrobianas em muitos isolados de SCN (Taponen e Pyörälä, 2009).

É relevante o estudo do potencial do extrato etanólico de plantas da flora nordestina para que a produção de fitoterápicos possa ser considerada numa etapa posterior. Este estudo serve ainda como ponto de partida para a obtenção de compostos sintéticos ou biossintéticos. Existem aqueles que exibem uma atividade biológica maior ou diferente de seus componentes isolados (Bôas e Gadelha, 2007).

A conexão que é realizada entre a pesquisa etnofarmacológica e a triagem fitoquímica permite economia de tempo, pois pode direcionar o pesquisador para o tipo de atividade e de constituinte químico que uma planta possui (Almeida et al., 2005). Marinho et al. (2007), investigaram a utilização de plantas medicinais na Veterinária, sendo observado que todos os entrevistados não só utilizavam plantas medicinais na terapêutica dos animais domésticos, como também aceitariam esta forma de tratamento como prescrição do Médico Veterinário. Ressalta-se ainda, a necessidade de esclarecimentos aos criadores quanto à utilização desta alternativa. O uso de plantas medicinais constitui uma opção viável em decorrência, principalmente, da facilidade de obtenção e o baixo custo (Marinho et al., 2007).

A prática da etnoveterinária vem sendo relatada em alguns países, sendo destacada a melhoria do "status" sanitário dos rebanhos, a redução dos custos da propriedade e a preservação de espécies de plantas, sendo que a maioria é empregada no tratamento de doenças parasitárias em ruminantes (Alawa et al., 2002; Viegi et al., 2003; Lans et al., 2007; Rochfort et al., 2008).

No presente estudo foi encontrada atividade antibacteriana no extrato etanólico das seis plantas avaliadas, entretanto, são necessários estudos com as frações destes extratos, reduzindo-se assim, as concentrações testadas. Considerando o baixo custo da fitoterapia e a atividade das plantas do bioma caatinga frente aos patógenos da mastite caprina e ovina, outros estudos acerca da atividade *in vitro* e da caracterização fitoquímica são necessários, além da avaliação dos aspectos toxicológicos das plantas.

## 5. Conclusões

- Registra-se pela primeira vez a atividade antibacteriana da *Encholirium spectabile*, *Bromelia laciniosa*, *Neoglaziovia variegata*, *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril* e *Selaginella convoluta* frente a isolados de *Staphylococcus* oriundos de casos de mastite subclínica em pequenos ruminantes;
- O extrato etanólico da *H. courbaril* apresenta elevada atividade antibacteriana sobre *Staphylococcus* provenientes de casos de mastite subclínica em cabras e ovelhas;
- *Staphylococcus* coagulase negativa são mais sensíveis aos extratos de plantas avaliados neste trabalho, quando comparados com *Staphylococcus* coagulase positiva.

**Agradecimentos:** à FACEPE pela concessão da bolsa de pós-graduação (R.M. Peixoto), a FAPESB pela concessão da bolsa de iniciação científica (W.E. Lima Silva) e ao IDR sisal pelo apoio financeiro e cedência das instalações.

## 6. Referências Bibliográficas

- Agra, M.F., Silva, K.N., Basílio, I.J.L.D., Freitas, P.F., Barbosa-Filho, J.M., 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev. Bras. de Farmacognosia*. 18(3), 472-508.
- Ahmad I., Beg A.Z., 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian plants against multi-drug resistant human pathogens. *J. of Ethnopharmacol.* 74, 113-123.
- Alawa, J.P., Jokthan, G.E., Akut, K., 2002. Ethnoveterinary medical practice for ruminants in the subhumid zone of northern Nigeria. *Prev. Vet. Med.* 54, 79-90.
- Albuquerque, U.P., Oliveira, R.F., 2007. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? *J. of Ethnopharmacol.* 113, 156-170.
- Aligianis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I.B., 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4168-4170.
- Almeida Alves, T.M., Silva, A.F., Brandão, M., Grandi, T.S.M., Smânia, E.F., Smânia Junior, A., Zani, C.L., 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem. do Inst. Oswaldo Cruz.* 95(3), 367- 373.
- Almeida, J. R. G. S., Moraes, A. C. A., Ribeiro, R. L., Goes, R. M. O., Quintans-Júnior, L. J., 2005. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no Vale do São Francisco. *Anais 1ª Reunião Regional da Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais, Fortaleza, CE.* (Resumo).
- Araújo, C.W.G., Peixoto-Neto, P.A.S., Campos, N.V.C., Porfírio, Z., Caetano, L.C., 2002. Antimicrobial activity of *Pithecolobium avaremotemo* Bark. *Fitoterapia.* 73(7/8), 698-700.
- Barlett.P.C., Miller, G.,Y., Lance, S.E., Heider, L.E., 1992. Managerial determinants of intramammary coliform and environmental streptococci infections in Ohio dairy herds. *J. Dairy Sci.* 14, 1241-1252.
- Baskaran, S.N., Kazmer, G.W., Hinckley, L., Andrew, S.M., Venkitanarayanan, K., 2009. Antibacterial effect of plant-derived antimicrobials on major bacterial mastitis pathogens in vitro. *J. Dairy Sci.* 92, 1423–1429.

- Bôas, G.K.V., Gadelha, C.A.G., 2007. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional. *Cad. Saúde Pública*. 23(6), 1463-1471.
- Bravo, J.A., Sauvain, M., Gimenez, A., Munoz, V., Callapa, J. Le Men-Oliver, L., Massiot, G., Lavaud, C., 1999. Bioactive phenolic glycosides from *Amburana cearensis*. *Phytochemistry*. 50(1), 71-74.
- Canuto, K.M., Silveira, E.R., 2006. Constituintes químicos da casca do caule de *Amburana cearensis* A.C. SMITH. *Quím. Nova*. 29(6), 1241-1243.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standards. Document CLSI M7-A7, CLSI, Wayne, Pennsylvania.
- Cos, P., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V., Maes, L., 2006. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* 'proof-of-concept'. 106, 290-302.
- Duarte, M.C.T., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L.G., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., 2005. Anti-*Candida* activity of essential oils and extracts from native and exotic medicinal plants used in Brazil. *J. of Ethnopharmacol.* 97, 305-311.
- Duarte, M. C. T., 2007. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. *Multiciência*. 7, 1-16.
- Fernandes, T.T., Santos, A.T.F., Pimenta, F.C., 2005. Atividade antimicrobiana das plantas – *Plathymenia reticulate*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. *Rev. de Pat. Trop.* 34(2), 113-122.
- Gonçalves, A.L., Alves Filho, A., Menezes, H., 2005. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arq. Inst. Biol.* 72(3), 353-358.
- Granato, D., Nunes, D.S., Mattos, P.P. Rios, E.M., Glinski, A., Rodrigues, L.C., Zanusso Júnior, G., 2005. Chemical and biological evaluation of rejects from the wood industry. *Braz. Arch. of Biol. and Technol.* 48, 237-241.
- Hirai, R.Y., Prado, J., 2000. Selaginellaceae Willk. no Estado de São Paulo, Brasil. *Revta brasil. Bot.* 23(3), 313-339.

- Iwu, M.M., Ezeugwu, C.O., Okungi, C.O., Sanson, D.R., Tempesta, M.S., 1990. Antimicrobial activity and terpenoids of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. Int. J. Crude Drug. Res. 28(1), 73-76.
- Kloucek, P., Polesny, Z., Svobodova, B., Vlkova, E., Kokoska, L., 2005. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Callería District. J. Ethnopharmacol. 99(2), 309-312.
- Lans, C., Turner, N., Khan, T., Brauer, G., Boepple, W., 2007. Ethnoveterinary medicines used for ruminants in British Columbia, Canada. J. Ethnobiol. and Ethnomed. 3, 11.
- Leal, L. K. A. M., Nechio, M., Silveira, E. R., Canuto, K. M., Fontenele, J. B., Ribeiro, R. A., Viana, G. S. B., 2003. Anti-inflammatory and Smooth Muscle relaxant activities of the hydroalcoholic extract and chemical constituents from *Amburana cearensis* A. C. Smith. Phytotherapy Res. 17, 335-340.
- Leal, L. K. A. M., Nobre-Júnior, H. V., Cunha, G. M. A., Moraes, M. O., Pessoa, C., Oliveira, R. A., Silveira, E. R., Canuto, K. M., Viana, G. S. B., 2005. Amburoside A, a glucoside from *Amburana cearensis* protects mesencephalic cells against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. Neurosci. Letters. 388, 86-90.
- Leite, J.P.V., 2009. Fitoterapia – bases científicas e tecnológicas. 1.º Ed. Atheneu, São Paulo. 328p.
- Mahasneh, A.M.A., Adel, M.A., El-Oqlah, A.A.B., 1999. Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. J. Ethnopharmacol. 64(3), 271-276.
- Maiga, A., Diallo, D., Fane, S., Sanogo, R., Paulsen, B.S., Cisse, B., 2005. A survey of toxic plants on the market in the district of Bamako, Mali: traditional knowledge compared with a literature search of modern pharmacology and toxicology. J. Ethnopharmacol. 96, 183-193.
- Manetti, L.M., Delaporte, R.H., Javerde Junior, A., 2009. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. Quím. Nova. 15, 1-13.
- Marinho, M.L., Alves, M.S., Rodrigues, M.L.C., Rotondano, T.E.F., Vidal, I.F., Silva, W.W., Athayde, A.C.R., 2007. A utilização de plantas medicinais em Medicina Veterinária. Rev. Bras. Pl. Med. 9(3), 64-69.
- Marsaioli, A.J. 1975. Diterpenes in the bark of *Hymenaea courbaril*. Phytochemistry. 14, 1882-1883.

- Martínez M.J., Betancourt J., Alonso-González N., Jauregui A., 1996. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* 52(3), 171-174.
- McChesney, J.D., Clark, A.M., Silveira, A.R., 1991. Antimicrobial diterpenes of *Croton sonderianus*. *J. Nature Product.* 54(6), 1625-1633.
- Moraes, A. C. A., Almeida, J. R. G. S., Quintans-Júnior, L. J., Lúcio, A. S. S. C., Oliveira, F. S., Almeida, R. N., Barbosa-Filho, J. M., Silva, G. C., 2006. Triagem fitoquímica e atividade antinociceptiva do extrato etanólico bruto de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). Anais XIX Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Salvador, BA (Resumo).
- Navarro V., Villarreal M.L., Rojas G., Xavierb L., 1996. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *J. Ethnopharmacol.* 53(3), 143-147.
- Negri, G., Oliveira, A.F.M., Salatino, M.L.F., Salatino, A., 2004. Chemistry of the stem bark of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.SM. *Rev. Bras. PI Med.* 6(3), 1-4.
- Nogueira, R.T., Shepherd, G.J., Laverde, J.A., Marsaioli, A.J., Lamamura, P.M., 2001. Clerodane-type diterpenes from the seed pods of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*. *Phytochemistry.* 58, 1153-1157.
- Novais, T.S., Costa, J.F.O., David, J.P.L., David, J.M., Queiroz, L.P., França, F., Giulietti, A.M., Soares, M.B.P., Santos, R.R., 2003. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. *Rev. Bras. de Farmacognosia.* 14, 5-8.
- Oliveira, D.F., Pereira, A.C., Figueiredo, H.C.P., Carvalho, D.A., Silva, G., Nunes, A.S., Alves, D.S., Carvalho, H.W.P., 2007. Antibacterial activity of plant extracts from Brazilian southeast region. *Fitoterapia.* 78, 142-145.
- Paiva, S.R., Figueiredo, M.R., Aragão, T.V., Kaplan, M.A., 2003. Antimicrobial activity in vitro of plumbagin isolated from *Plumbago* species. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98(7), 959-961.
- Peixoto-Neto, P.A.S, Silva, M.V., Campos, N.V.C., Porfírio, C.Z., Caetano, L.C., 2002. Antibacterial activity of *Borreria verticillata* roots. *Fitoterapia.* 73(6), 529-531.
- Pereira, C.K.B., Rodrigues, F.F.G., Mota, M.L., Sousa, E.O., Leite, G.O., Barros, A.R.C., Lemos, T.L.G., Costa, J.G.M., 2007. Composição química, atividade antimicrobiana e toxicidade do óleo essencial de *Hymenaea courbaril* L.

- (jatobá). Anais 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, São Paulo, SP (Resumo).
- Robbers, J.E., Speedie, M.K., Tyler, V.E., 1997. Farmacognosia e Farmacobiotechnologia. Premier, São Paulo, 372p.
- Rochfort, S., Parker, A.J., Dunshea, F.R., 2008. Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*. 69, 299-322.
- SAS, Statistical Analysis System. 2003. Statistical Analysis System User's Guide, version 6, fifth ed. SAS Institute Inc., Raleigh, NC, USA.
- Schuch, L.F.D., Wiest, J.M., Coimbra, H.S., Prestes, L.S., Toni, L., Lemos, J.S., 2008. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microorganismos relacionados à mastite bovina. *Ciênc. Ani. Bras.* 9(1), 161-169.
- Silva, A.O., Albuquerque, U.P., 2005. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). *Acta bot. bras.* 19(1), 17-26.
- Souza, C.D., Felfili, J.F., 2006. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. *Acta bot. bras.* 20(1), 135-142.
- Taponen, S., Pyörälä, S., 2009. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis – Not so different from *Staphylococcus aureus*? *Vet. Microbiol.* 134, 29-36.
- Ushimaru, P.I., Silva, M.T.N., Di Stasi, L.C., Barbosa, L., Fernandes Junior, A., 2007. Antibacterial activity of medicinal plant extracts. *Bras. J. Microbiol.* 38, 717-719.
- Valentim, A.P.T., 2006. Atividade antimicrobiana, estudo fitoquímico e identificação de constituintes apolares do alburno de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex. Hayne (jatobá). Dissertação de Mestrado em biotecnologia de produtos bioativos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. 100p.
- Viegi, L., Pieroni, A., Guarrera, P.M., Vangelisti, R., 2003. A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *J. Ethnopharmacol.* 89, 221-244.

## Considerações finais

- Na caprinocultura leiteira do sertão da Bahia e Pernambuco, os principais patógenos envolvidos em casos de mastite subclínica são aqueles pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp;
- Os isolados bacterianos obtidos de casos de mastite deste estudo apresentam um elevado percentual de sensibilidade para a maioria dos grupos antimicrobianos, entretanto, demonstra-se baixa sensibilidade para o ácido nalidíxico e a associação gentamicina e amoxicilina;
- Em ambas as espécies animais estudadas, quando o CMT é correlacionado com a lactocultura, têm-se uma maior sensibilidade a partir do escore 1+;
- Neste estudo, a ausência da assistência técnica e a presença de animais mestiços, constituem fatores de risco para a mastite em cabras leiteiras.
- Registra-se pela primeira vez a atividade antibacteriana da *Encholirium spectabile*, *Bromelia laciniosa.*, *Neoglaziovia variegata*, *Amburana cearensis*, *Hymenaea courbaril* e *Selaginella convoluta* frente isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos de casos de mastite subclínica em pequenos ruminantes;
- O extrato etanólico da *H. courbaril* apresenta elevada atividade antibacteriana sobre *Staphylococcus* spp. provenientes de casos de mastite em cabras e ovelhas;
- *Staphylococcus* coagulase negativa são mais sensíveis aos extratos de plantas avaliados neste trabalho, quando comparados com *Staphylococcus* coagulase positiva.

## Referências bibliográficas

- AGRA, M.F. et al. Mediciniais e produtoras de princípios ativos. In: SAMPAIO, E.V.S.P; PAREYN, F.G.C; FIGUEIRÔA, J.M.; SANTOS JUNIOR, A.G. (Ed). **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial**. Recife: Associação de Plantas do Nordeste, 2005. p.135-198.
- ANDERSON, D.E.; HULL, B.H.; PUGH, D.G. Enfermidades da glândula mamária. In: PUGH, D.G. (Ed). **Clínica de Ovinos e Caprinos**. 1º Ed. São Paulo: Roca, 2004. p.379–399.
- BARLETT.P.C.; MILLER, G.,Y.; LANCE, S.E.; HEIDER, L.E. Managerial determinants of intramammary coliform and environmental streptococci infections in Ohio dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.14, p.1241-1252, 1992.
- BERRY, S.L.; MASS, J.; KIRK, J.H.; REYNOLDS, J.P.; GARDNER, I.A.; AHAMADI, A. Effects of antimicrobial treatment at the end of lactation on milk yield, somatic cell count, and incidence of clinical mastitis during the subsequent lactation in a dairy herd with a low prevalence of contagious mastitis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.211, p.207-211, 1997.
- BUSWELL, J. Simple mastitis bacteriology for the practice. **In Practice**, v.17, p.426-432, 1995.
- CLEMENTS, A.C.A.; TAYLOR, D.J.; FITZPATRICK, J.L. Evaluation of diagnostic procedures for sbclinical mastitis in meat-producing sheep. **Journal of Dairy Research**, v.70, n.2, p. 139-148, 2003.
- CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J.C.; MARCO, J.C.; PAAPE, M.J.; GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.68, p.145-153, 2007.
- ERSKINE.R.J. Mastitis control in dairy herds with high prevalence of subclinical mastitis. **The compendium collection**, v.14, p.7-15, 1992.
- FONSECA, L. F. L. & SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. 2.º ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2001. 175p.
- HOLANDA JUNIOR, E. V. & ARAÚJO, G. G. L. O papel dos caprinos e dos ovinos deslanados na agricultura familiar. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande – MS. **Anais...**  
Campo Grande – MS: SBZ, 2004. (palestra).

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em:  
<http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em 03 de Setembro de 2009.

KLAAS, I.C.; ENEVOLDSEN, C.; VAARST, M.; HOUEH, H. Systematic clinical examinations for identification of latent udder health types in Danish dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p.1217-1228, 2004.

LADEIRA, S.R.L.. Mastite ovina. In: **Doenças de ruminantes e eqüinos**. RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.D.C (ed). Pelotas: Ed. Universitária/UFPel, 1998. p.261-264.

LOGUERCIO, A.P.; GROFF, A.C.M.; PEDROZZO A.F.; WITT, N.M.; SILVA, M.S.; VARGAS, A.C. Atividade *in vitro* do extrato de própolis contra agentes bacterianos da mastite bovina. **Pesq. Agropec. Bras**, v.41, n.2, p.347-349, 2006.

PENGOV, A. & CERU, S. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.10, p.3157-3163, 2003.

RASMUSSEN, M.D. & MADSEN, N.P. Effects of milklime vacuum, pulsator airline vacuum and cluster weight on milk yield, teat condition, and udder health. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.77-84, 2000.

RIBEIRO, S. D. A. **Caprinocultura: criação racional de caprinos**. 1ª ed. São Paulo: Nobel, 1997, 318p.

SCHRODER, A.C. & HAMMAN, J. The influence of technical factors on differential cell counts in milk. **Journal of Dairy Research**, v.72, p.153-158, 2005.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; XIMENES, L. F. **Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi – áridas do Nordeste**. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 1998. 50p.

WAAGE, S.; ODEGAARD, S.A.; LUND, A.; BRATTGJERD, S.; ROTHE, T. Case-control study of risk factor to clinical mastitis in postpartum dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.392-399, 2001.

WATTS.J.L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v.16, p.41-66, 1988.

WILSON, D.J.; GONZAÇEZ, R.N.; CASE, K.L.; GARRISON, L.L.; GROHN, Y.T. Comparison of seven antibiotic treatments with no treatment for bacteriological efficacy against bovine mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1664-1670, 1999.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; FILHO, V.C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v.24, n.1, p.147-152, 2001.

# APÊNDICES

## APÊNDICE 1

### Questionário - Aspectos sócio-econômicos e epidemiológicos

Questionário nº \_\_\_\_\_

#### Dados da propriedade

Nome da Propriedade: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Distrito/Localidade \_\_\_\_\_ Município \_\_\_\_\_ UF \_\_\_\_\_

#### I - DADOS DO CRIADOR

1. Idade do criador: \_\_\_\_\_ anos
2. Estado civil: (1) Solteiro (2) Casado (3) Separado (4) Viúvo
3. Nível educacional:
  - (0) Não estudou
  - (1) Primário incompleto
  - (2) Primário completo
  - (3) Secundário incompleto
  - (4) Secundário completo
  - (5) Profissionalizante
  - (6) Superior
4. Já realizou algum curso ou treinamento em caprino-ovinocultura?
  - (0) não
  - (1) sim
5. Pertence a algum tipo de associação?
  - (0) não
  - (1) sim, a cooperativa local
  - (2) sim, outra ( \_\_\_\_\_ )
6. Esta é sua ocupação principal?
  - (0) Não
  - (1) Sim
  - 32.1. Possui outra ocupação?
    - (0) Não
    - (1) Sim:
7. Você ou outra pessoa da família ou trabalhadores já sofreram de alguma doença relacionada à criação de animais?

(0) Não (1) Sim

**PROPRIEDADE:**

**Área:** \_\_\_\_\_

**Tipo do terreno:** ( ) plano ( ) alagado ( ) acidentado

**II - CARACTERÍSTICAS GERAIS DA CRIAÇÃO**

**8. Tamanho do Rebanho**

Borregos (<1 ano): Ovelhas: Reprodutores:

Cabritos (< 1 ano): Cabras: Bodes:

Rufião:

Compartilha reprodutor com outros criadores? (0) Não (1) Sim

**9. Raça predominante:**

**10. Tipo de produção:** (1) Carne (2) Leite (3) Mista

**11. Tipo de manejo:** (0)  Nenhum/ outro

(1)  Intensivo (preso dia e noite)

(2)  Semi-extensivo (pasto + preso)

(3)  Extensivo (solto maior parte do tempo)

**12. Tipo de pasto:**

(0)  Não tem pasto (1)  Nativo (2)  Planta capim

**13. Nível da produção:**

a. Litros de leite por ano:

b. Número de animais vendidos/abatidos por ano:

**14. Tempo na atividade:**

**15. Frequência com que limpa/varre/desinfeta as instalações:**

(0) não limpa (1) diário (2) semanal (3) mensal (4) anual

**16. Dispõe de serviço veterinário?**

(0)  Não (1)  Particular (2)  Cooperativa/  
associação (3)  Governo estadual/  
federal

**17. Empregados na propriedade:** (1)  Familiares (2)  Contratados

**18. Tem eletricidade?** (0)  não (1)  sim

**19. Fonte de água:**

(0) não tem (1) açude (2) cacimba/ poço (3) companhia de  
abastecimento (4) outra

## **MANEJO SANITÁRIO**

Mortalidade

- (0) Não sabe (1) Abaixo de 10% (2) Entre 10 e 20% (3) Entre 20 e 50%  
(4) Acima de 50%

### III - PROBLEMAS SANITÁRIOS (DOENÇAS)

- 20.** Observou alguma fêmea que não emprenhou no último ano?  
(0) Não (1) Sim
- 21.** Número de fêmeas que abortaram (entre) no último ano:
- 22.** Número de borregos/ cabritos que morreram durante o parto:
- 23.** Número de cabritos/ borregos que morreram antes de 1 mês de vida:
- 24.** Entre as doenças abaixo, assinale aquelas que ocorrem no rebanho:
- |                   |         |           |              |           |
|-------------------|---------|-----------|--------------|-----------|
| a. Conjuntivite:  | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |
| b. Pneumonia:     | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |
| c. Diarréia:      | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |
| d. Helmintoses:   | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |
| e. Mal do Caroço: | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |
| f. Mastite:       | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |
| g. Pododermatite: | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |
| h. Boqueira:      | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |
| i. Aborto:        | (0) não | (1) pouco | (2) às vezes | (3) muito |

Vermifugação:

- (0) Não faz (1) Estratégica (2) Tática (3) Supressiva (4) Curativa

### III - MANEJO DO REBANHO

- 25.** Adquiriu fêmea reprodutora de reposição nos últimos 5 anos?  
(0) Não (1) Sim
- 26.** Adquiriu machos reprodutores de reposição nos últimos 5 anos?  
(0) Não (1) Sim

- 27.** Qual a origem dos animais adquiridos?
- (1) Propriedades vizinhas (mesmo município)
  - (2) Outras propriedades (fora do município)
  - (3) Feiras ou exposições de animais
  - (4) Outros Estados
- 28.** Realizou quarentena ou exames nos animais antes de introduzir no rebanho?
- (0) Não (1) Sim, ambos. (2) Somente quarentena
  - (3) Somente exame.
- 29.** Já vacinou os animais contra brucelose?
- (0) Não (1) Somente os jovens. (2) Somente os adultos
  - (3) Todo o rebanho
- 30.** Com que frequência vacina?
- (0) Nunca
  - (1) Raramente (menos de três vezes nos últimos cinco anos)
  - (2) Vacinou uma vez nos últimos cinco anos
  - (3) Todos os anos

#### IV - MANEJO REPRODUTIVO DO REBANHO

- 31.** Qual o tipo de manejo reprodutivo do rebanho?
- (1) Monta natural (2) Monta controlada (3) Inseminação artificial
- 32.** Qual a época (meses) de reprodução/ parição?
- (0) o ano todo (não controla) (1) controla
- 33.** Quantos borregos/ cabritos cada fêmea produziu no último ano?
- (0) Não sabe dizer (1) 1 (2) 2 (3) 3

#### V - CARACTERÍSTICAS DA ORDENHA

- 34.** Local onde é realizada a ordenha?
- (1) Curral (2) Plataforma de ordenha
- 35.** Utilização do pré e pós-dipping?
- (0) sim (1) não
- 36.** Presença de moscas no local da ordenha?
- (0) sim (1) não

## APÊNDICE 2



**Apêndice 2.** Plantas da flora do bioma caatinga. **A:** *Encholirium spectabile*; **B:** *Bromelia laciniosa*; **C:** *Neoglaziovia variegata*; **D:** *Selaginella convoluta*; **E:** *Amburana cearensis*; **F:** *Hymenaea courbaril* (Fonte: Dr<sup>a</sup>. Lúcia Kill – Embrapa Semi-Árido).