

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM HIGIENE VETERINÁRIA E
PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**

JULIANA FERREIRA DE ALMEIDA

**AGENTES INFECCIOSOS CAUSADORES DE MASTITE E PARÂMETROS
FÍSICO-QUÍMICOS NA QUALIDADE DO LEITE DE CABRA *IN NATURA***

**Niterói, RJ
2009**

JULIANA FERREIRA DE ALMEIDA

AGENTES INFECCIOSOS CAUSADORES DE MASTITE E PARÂMETROS FÍSICO-
QUÍMICOS NA QUALIDADE DO LEITE DE CABRA *IN NATURA*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito para obtenção do Grau de Doutor em Medicina Veterinária – Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

ORIENTADOR: Dr. ELMIRO ROSENDO DO NASCIMENTO

CO-ORIENTADOR: D^{ra}. MARIA HELENA COSENDEY DE AQUINO

Niterói-RJ
2009

A447 Almeida, Juliana Ferreira de
Agentes infecciosos causadores de mastite e
parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de
cabra *in natura* / Juliana Ferreira de Almeida. - 2009.
106f.

Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e
Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)-
Universidade Federal Fluminense, 2009.

Orientador: Elmiro Rosendo do Nascimento

1. Leite de Cabra. 2. Qualidade. 3. Mastite. 4.
Produção Intelectual I. Título.

CDD 636.089819

JULIANA FERREIRA DE ALMEIDA

AGENTES INFECCIOSOS CAUSADORES DE MASTITE E PARÂMETROS FÍSICO-
QUÍMICOS NA QUALIDADE DO LEITE DE CABRA *IN NATURA*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito para obtenção do Grau de Doutor em Medicina Veterinária – Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovada em 18 de Fevereiro de 2009.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Elmiro Rosendo do Nascimento - Orientador
UFF

D^{ia}. Maria Helena Cosendey de Aquino – Co-orientadora
UFF

D^{ia}. Maria Lúcia Barreto
UFF

D^{ia}. Maria da Graça Fichel do Nascimento
EMBRAPA – Agroindústria de Alimentos (Aposentada)

Dr. Roberto Soares de Castro
UFRPE

Niterói, RJ
2009

“Há pessoas que choram por saber que as rosas têm espinhos. Outras há que gargalham de alegria por saber que os espinhos têm rosas”.

Kung Futsé

AGRADECIMENTOS

À espiritualidade, pela energia que me conduz e ampara;

À minha família, pelo apoio e compreensão de minha ausência em alguns momentos para a realização de mais um sonho;

Ao meu marido, Daniel Abrão Diab, pelo companheirismo, amor e auxílio na coleta de amostras clínicas, indispensáveis na realização deste trabalho.

Ao orientador, mestre e amigo, Dr. Elmiro Rosendo do Nascimento, pela paciência, confiança e dedicação, fundamentais em minha vida acadêmica e profissional;

À co-orientadora, D^{ra}. Maria Helena Cosendey de Aquino, pelo auxílio e dedicação na realização das análises bacteriológicas e confiança em meu trabalho;

Às médicas veterinárias Karine de Castro Meireles Vieira e Eunice Maria Rodrigues Alberto, pela colaboração na obtenção de amostras clínicas e contato com os produtores, fundamentais para a realização deste estudo;

À médica veterinária e pesquisadora D^{ra}. Helena Magalhães, Laboratório de Biologia Animal - PESAGRO / Niterói, RJ, pela preciosa colaboração na identificação bacteriana;

Ao Dr. Alfredo Morandini, chefe do Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO / MAPA / Unidade Maracanã - RJ, pela oportunidade de realizar as análises físico-químicas em laboratório de referência nacional;

Ao químico Carlos Henrique da Silva Leitão, funcionários e estagiários do LANAGRO / MAPA / RJ, pelo apoio laboratorial e colaboração nas análises físico-químicas;

À professora D^{ra}. Virginia Léo de Almeida Pereira, pela amizade e apoio na execução de várias etapas deste estudo;

À pesquisadora D^{ra}. Maria da Graça Fichel do Nascimento e à professora D^{ra}. Maria Lúcia Barreto, pelos conhecimentos divididos, correções e sugestões em minha qualificação;

Ao professor Dr. Roberto Soares de Castro, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, pela colaboração no diagnóstico de CAE com a doação de um kit comercial;

Ao professor Dr. Robson Maia Franco, pela doação da cepa ATTC 25923 de *Staphylococcus aureus* e pelo esclarecimento de dúvidas em vários momentos;

Ao professor Dr. Walter Lilenbaun e ao médico veterinário Paulo Roberto Celles Cordeiro, pelo auxílio no contato com produtores para a obtenção de amostras clínicas;

Aos produtores de leite de cabra que permitiram a realização da coleta de amostras clínicas em suas propriedades, indispensáveis neste estudo;

Aos médicos veterinários Clarissa Lima, Thaís Okamoto e Steveson, pelo auxílio na coleta de amostras clínicas e pelas longas risadas compartilhadas;

Aos médicos veterinários Leandro Machado, Sandra Baptista dos Santos e Fernanda Martinez Xavier Alves que auxiliaram na realização da PCR;

Aos médicos veterinários que apoiaram o presente estudo e compartilharam alegrias e tristezas: Rita de Cássia Figueira Silva, MÔsar Lemos, Dayse Lima da Costa Abreu, Vinícius de Queiroz Teixeira, Vanessa Lima, Felipe Faccini dos Santos e Raquel Gouvêa;

Ao senhor Dráusio de Paiva Ferreira, secretário do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, pela disponibilidade e auxílio prestado em diversos momentos;

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, representada anteriormente pelo Dr. Sérgio Borges Mano, e atualmente pela D^{ra}. Mônica Freitas de Queiroz, pelo empenho e dedicação;

Aos queridos mestres que contribuíram para minha formação acadêmica;

A todos aqueles que direta ou indiretamente auxiliaram ou colaboraram com o presente estudo.

Ao CNPq e à FAPERJ, pelo suporte financeiro.

RESUMO

A mastite caprina ocasiona significativos prejuízos econômicos em decorrência do descarte do leite, dos custos com medicamentos e assistência veterinária, da redução da quantidade e qualidade do leite e derivados lácteos. O consumo do leite pode representar sério problema de saúde pública devido à transmissão de patógenos e resíduos de antibióticos, em casos de animais tratados. O objetivo do presente estudo foi isolar e identificar os principais agentes bacterianos em 11 propriedades, identificadas alfabeticamente de A à K. Foram examinadas 129 amostras de leite de cabra *in natura* em relação à presença da Artrite Encefalite Caprina (CAE), realizar e avaliar análises físico-químicas e *California Mastitis Test* (CMT) para o diagnóstico da mastite subclínica, e verificar o perfil de resistência antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* spp. frente a antimicrobianos de utilização clínica veterinária. Foram isoladas 101 cepas bacterianas: *Staphylococcus* spp. 73,26% (74/101), bastões Gram positivos 9,90% (10/101), *Streptococcus* spp. 5,94% (6/101), *Proteus vulgaris* 2,97% (3/101), *Pseudomonas* spp. 2,97% (3/101), *Escherichia coli* 1,98% (2/101), *Klebsiella* spp. 1,98% (2/101) e *Enterococcus* spp. 0,99% (1/101). Os resultados foram negativos tanto para o cultivo quanto para o diagnóstico molecular (PCR) para *Mycoplasma* spp., de acordo com a metodologia empregada. A maior taxa de resistência antimicrobiana foi obtida para a ampicilina e a penicilina e não foi observada resistência à gentamicina e cefotaxima. A prevalência para CAE pela Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) foi de 24,0% (31/129), sendo a positividade para os caprinos ordenhados mecanicamente significativamente maior ($p < 0,05$) do que para aqueles ordenhados manualmente, com um risco de 4,7 pelo *odds ratio* (intervalo de confiança de 1,922 a 11,687), e 72,7% (8/11) dos rebanhos apresentaram pelo menos uma cabra positiva para CAE. Os parâmetros físico-químicos acidez, caseína, cloretos, densidade, extrato seco total e desengordurado, gordura, índice crioscópico e lactose diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre e dentre os rebanhos pelos testes estatísticos ANOVA e Tukey-Kramer. Em relação aos padrões estabelecidos pela legislação, os rebanhos K para acidez; C, E, F, G, H, I e J para gordura; H para densidade e A para lactose, não atenderam o mínimo exigido. Os valores de lactose e cloretos foram significativamente menores e o índice crioscópico maior em cabras positivas para CAE do que em cabras soronegativas pelo teste t-Student ($p < 0,05$). A positividade para CAE, a presença de patógenos bacterianos no leite e parâmetros físico-químicos fora dos padrões fixados pela legislação reforça a importância em monitorar a fase de produção deste alimento nas propriedades, a fim de propiciar um produto de melhor qualidade ao consumidor.

Palavras-chave: Leite de cabra, mastite, qualidade, susceptibilidade, CAE.

ABSTRACT

Goat mastitis causes significant economic losses due to discard of milk, costs of drugs and veterinary care, reducing the quantity and quality of milk and dairy products. Milk consumption may represent serious public health problem due to transmission of pathogens and antimicrobials residues in cases of goat treatment. The objective of this study was to isolate and identify the main bacterial agents in 11 goat farms alphabetically identified from A to K. One hundred twenty nine raw goat milk samples were examined for the presence of the caprine arthritis encephalitis (CAE), physicochemical parameters and the California Mastitis Test (CMT) for the diagnosis of subclinical mastitis, besides the profile evaluation of *in vitro* antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. to antimicrobials used in veterinary therapeutic. A total of 101 bacterial isolates were obtained: *Staphylococcus* spp. 73.26% (74/101), Gram-positive rods 9.90% (10/101), *Streptococcus* spp. 5.94% (6/101), *Proteus vulgaris* 2.97% (3/101), *Pseudomonas* spp. 2.97% (3/101), *Escherichia coli* 1.98% (2/101), *Klebsiella* spp. 1.98% (2/101) and *Enterococcus* spp. 0.99% (1/101). Negative results were obtained from traditional culture as well as by molecular method (PCR) for *Mycoplasma* spp. The profile of antimicrobial sensitivity *in vitro* yielded highest rate of resistance to penicillin and ampicillin and no resistance to cefotaxim and gentamicin. The prevalence of CAE by agarose gel immunodiffusion (IDGA) was 24.0% (31/129), being the positivity of mechanical milked goats significantly greater ($p < 0.05$) than handly milked ones with risk of 4.7 by odds ratio (confidence interval from 1.922 to 11.687). On herds basis, 72.7% (8/11) of them had at least one goat positive for CAE. The lactose and chloride contents were significantly lower and cryoscopic index greater in positive goats to CAE than negative ones by t-Student test ($p < 0.05$). The physicochemical parameters of acidity, casein, chorides, density, dry total extract and solids non-fat, fat, lactose and cryoscopic index differed significantly ($p < 0.05$) between and among the herds by statistical tests of ANOVA and Tukey-Kramer. In relation to the Brazilian government criteria, the herds K for acidity; C, E, F, G, H, I and J for fat; H for density and A for lactose, did not meet the minimum requirement. Positivity to CAE, the presence of bacterial pathogens in milk and physicochemical parameters outside the legislation standards, reinforces the importance of monitoring the production stages on farm level in order to provide a better quality product to the consumer.

Key-words: Goat milk, mastitis, quality, susceptibility, CAE

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 Cabras mestiças das raças Saanen e Parda Alpina no capril da propriedade A, Paracambi, RJ, p.43
- Figura 2 Cabras mestiças das raças Saanen e Parda Alpina no capril da propriedade J, Viçosa, MG, p.43
- Figura 3 Cabras Saanen no capril da propriedade K, Niterói, RJ, p.44
- Figura 4 Ordenha manual na propriedade A, Paracambi, RJ, p.44
- Figura 5 Ordenha mecânica na propriedade K, Niterói, RJ, p.45
- Figura 6 Colônias de bactérias de coloração cinza em meio ágar sangue ovino a 5%, p.58
- Figura 7 Cocos Gram positivos corados pelo método de Gram a partir do cultivo de amostra de leite de cabra, p.59
- Figura 8 Bacilos Gram negativos corados pelo método de Gram a partir do cultivo de amostra de leite de cabra, p.59
- Figura 9 Frequência das amostras de leite de cabra positivas e negativas no cultivo, p.60
- Figura 10 Frequência das 101 cepas bacterianas isoladas a partir de 129 amostras de leite de cabra *in natura*, p.61
- Figura 11 Frequência de *Staphylococcus* hemolíticos e não-hemolíticos, coagulase positiva e negativa, isolados em leite de cabras, p.61
- Figura 12 M: Ladder 100pb; (+): cepa de referência *M. agalactiae* GM139; 1 ao 17: DNA de amostras de leite de cabra; (-): controle negativo: água para PCR, p.65
- Figura 13 M: Ladder 100pb; 1 ao 20: DNA de amostras de leite de cabra; A: cepa de referência *M. agalactiae* GM139; B: cepa de referência *M. mycoides* LC, p.66
- Figura 14 M: Ladder 100pb; (+): cepa de referência *M. mycoides* LC; 60 ao 71: DNA de amostras de leite; (-) controle negativo: água par PCR, p.66
- Figura 15 Linha de precipitação contínua assinalada por seta indicando soropositividade para CAE no teste de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), p.68

- Figura 16 Frequência de amostras de leite de cabra *in natura* com o teor de acidez superior a 18°D em relação à presença ou ausência de agentes infecciosos p.70
- Figura 17 Frequência de amostras de leite de cabra *in natura* com o teor de gordura inferior a 2,9% em relação à presença ou ausência de agentes infecciosos, p.71
- Figura 18 Frequência de amostras de leite de cabra *in natura* com o teor de lactose inferior a 4,3% em relação à presença ou ausência de agentes infecciosos, p.73

LISTA DE QUADROS E TABELAS

- Tabela 1 Produção mundial de leite de diferentes espécies animais no período de 1996 a 2006, p.19
- Tabela 2 Efetivo de caprinos no Brasil e por região no período de 1970 a 2006, p.20
- Tabela 3 Produção total de leite de cabra no Brasil e por região no período de 1975 a 2006, p.20
- Tabela 4 Produção de leite de cabra no Brasil segundo as Grandes Regiões Nordeste e Sudeste e respectivas Unidades de Federação em 2006, p.20
- Quadro 1 Composição do leite caprino, ovino, bovino e humano, p.22
- Tabela 5 Interpretação dos escores do CMT em leite de cabra, p.34
- Tabela 6 Distribuição de animais por municípios e estados, sistema de ordenha adotado por propriedade e número de cabras avaliadas, p.42
- Quadro 2 Programas das PCR para *Mycoplasma* spp. e *M. mycoides cluster*, p.52
- Quadro 3 *Primers* utilizados na PCR para *Mycoplasma* spp. e *M. mycoides cluster* com suas respectivas seqüências de nucleotídeos, tamanho do produto amplificado e referências., p.53
- Tabela 7 Positividade nos exames da Caneca Telada, *California Mastitis Test* (CMT) e Bacteriológico, a partir de 129 amostras de leite de cabra *in natura*, de 11 propriedades, nos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.57
- Tabela 8 Positividade no exame bacteriológico por sistema de ordenha em caprinos leiteiros de rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.62
- Tabela 9 Bactérias isoladas no leite de cabra *in natura* de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro em relação aos escores do *California Mastitis Test* (CMT), p.63
- Tabela 10 Sensibilidade, especificidade e valores preditivos do *California Mastitis Test* (CMT) em relação ao exame bacteriológico (Padrão Ouro) de 129 amostras de leite de cabra *in natura*, de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.63
- Tabela 11 Susceptibilidade a antimicrobianos das 56 cepas *Staphylococcus* spp. coagulase negativa isoladas de 129 amostras de leite de cabra *in natura*, de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.64

- Tabela 12 Positividade para CAE em 11 rebanhos caprinos leiteiros dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro pela Imunodifusão em Gel de Agarose, p.67
- Tabela 13 Positividade na IDGA para CAE por sistema de ordenha em caprinos leiteiros de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.68
- Tabela 14 Positividade na IDGA para CAE em relação ao CMT em caprinos leiteiros de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.69
- Tabela 15 Valores médios dos parâmetros físico-químicos do leite de cabra por rebanho, em 11 propriedades dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.74
- Tabela 16 Valores para acidez do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.74
- Tabela 17 Valores para gordura do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.75
- Tabela 18 Valores para caseína do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.75
- Tabela 19 Valores para cloretos do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.76
- Tabela 20 Valores para EST do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.76
- Tabela 21 Valores para ESD do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.77
- Tabela 22 Valores para índice crioscópico do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.77
- Tabela 23 Valores para densidade do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.78
- Tabela 24 Valores para lactose do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.78
- Tabela 25 Diferenças estatísticas dos parâmetros físico-químicos de leite caprino entre as 11 propriedades, dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.79
- Tabela 26 Média, desvio padrão ($X \pm DP$) e amplitude de parâmetros físico-químicos em 119 amostras de leite de cabra *in natura* distribuídos segundo a positividade para o exame bacteriológico, de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, p.80
- Tabela 27 Média, desvio padrão ($X \pm DP$) e amplitude de parâmetros físico-químicos no leite de cabra *in natura* distribuídos segundo a positividade para CAE, p.81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACCO	Agalaxia Contagiosa dos Caprinos e Ovinos
AS	Ágar Sangue
BGN	Bacilos Gram Negativos
BGP	Bacilos Gram Positivos
BHI	Brain Heart Infusion
CAE	Caprine Arthritis Encephalitis
CAEV	Caprine Arthritis Encephalitis Virus
CCS	Contagem de Células Somáticas
CMT	California Mastitis Test
EMB	Eosin Methylene Blue
ESD	Extrato Seco Desengordurado
EST	Extrato Seco Total
IDGA	Imunodifusão em Gel de Agarose
LVPR	Lentivírus dos Pequenos Ruminantes
<i>Ma</i>	<i>Mycoplasma agalactiae</i>
<i>Mcc</i>	<i>Mycoplasma capricolum</i> subesp. <i>capricolum</i>
<i>Mmc</i>	<i>Mycoplasma mycoides</i> subesp. <i>capri</i>
<i>MmmLC</i>	<i>Mycoplasma mycoides</i> subesp. <i>mycoides</i> Large Colony
<i>Mp</i>	<i>Mycoplasma putrefaciens</i>
MVV	Maedi-Visna Virus
NMC	National Mastitis Council
OIE	Office Internacional des Epizooties (World Organization for Animal Health)
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (Polimerase Chain Reaction)
PNSCO	Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos
SCN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
SCP	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva

SUMÁRIO

RESUMO, p.5

ABSTRACT, p.6

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, p.7

LISTA DE QUADROS E TABELAS, p.9

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS, p.11

1 INTRODUÇÃO, p.15

2 REVISÃO DE LITERATURA, p.18

2.1 PRODUÇÃO DE LEITE DE CABRA NO BRASIL, p.18

2.2 QUALIDADE DO LEITE DE CABRA, p.21

2.3 MASTITE, p.25

2.3.1 **Etiopatogenia da Mastite Caprina**, p.25

2.3.1.1 *Staphylococcus* spp., p.27

2.3.1.2 *Streptococcus* spp., Bacilos Gram negativos e outros microrganismos, p.28

2.3.1.3 *Mycoplasma* spp., p.29

2.3.1.4 Vírus da Artrite Encefalite Caprina, p.31

2.3.2 **Diagnóstico da Mastite Bacteriana Caprina**, p.33

2.3.2.1 Micoplasmas, p.35

2.3.3 **Diagnóstico da Artrite Encefalite Caprina (CAE)**, p.37

2.3.4 **Controle e Prevenção da Mastite Caprina**, p.37

2.3.5 **Tratamento e Implicações**, p.40

3 MATERIAL E MÉTODOS, p.41

3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES LABORATORIAIS, p.41

3.2 MODALIDADE DE ESTUDO E AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA, p.41

3.3 PROPRIEDADES, REBANHOS E SISTEMAS DE ORDENHA, p.42

3.4 DETECÇÃO DE MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA A CAMPO, p.45

3.4.1 **Teste da Caneca Telada**, p.45

3.4.2 *California Mastitis Test (CMT)*, p.45

3.5 COLETA DE ESPÉCIMES CLÍNICOS, p.46

3.6 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS, p.46

3.6.1 **Cultivo e isolamento**, p.46

3.6.2 **Identificação bacteriana**, p.47

3.6.2.1	Coloração pelo Método de Gram,	p.47
3.6.2.2	Teste da Catalase,	p.47
3.6.2.3	Teste da Oxidase,	p.48
3.6.2.4	Prova do Sal (NaCl a 6,5%) e Hidrólise da Esculina,	p.48
3.6.2.5	Teste da Coagulase,	p.49
3.6.2.6	Teste da Desoxirribonuclease (DNase),	p.49
3.6.2.7	Teste do Ágar Manitol,	p.49
3.6.2.8	Identificação de Bacilos Gram Negativos,	p.50
3.6.3	Teste de susceptibilidade <i>in vitro</i> para <i>Staphylococcus spp.</i>,	p.50
3.7	ANÁLISE MOLECULAR,	p.51
3.7.1	PCR para <i>Mycoplasma spp.</i> e <i>Mycoplasma mycoides cluster</i>,	p.51
3.8	ANÁLISE SOROLÓGICA PARA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAE),	p.53
3.8.1	IDGA para detecção de CAE,	p.53
3.9	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS,	p.54
3.9.1	Determinação da Acidez Titulável,	p.55
3.9.2	Determinação da Gordura,	p.55
3.9.3	Determinação da Caseína,	p.55
3.9.4	Determinação de Cloretos,	p.55
3.9.5	Determinação do Extrato Seco Total (EST),	p.55
3.9.6	Determinação do Extrato Seco Desengordurado (ESD),	p.56
3.9.7	Determinação do Índice Crioscópico,	p.56
3.9.8	Determinação da Densidade,	p.56
3.9.9	Determinação da Lactose,	p.56
4	RESULTADOS,	p.57
4.1	MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA A CAMPO,	p.57
4.2	ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS,	p.58
4.2.1	Cultivo, isolamento e identificação bacteriana,	p.58
4.2.2	Teste de susceptibilidade <i>in vitro</i> para <i>Staphylococcus spp.</i>,	p.64
4.3	ANÁLISE MOLECULAR,	p.65
4.3.1	PCR para <i>Mycoplasma spp.</i> e <i>Mycoplasma mycoides cluster</i>,	p.65
4.4	ANÁLISE SOROLÓGICA PARA DETECÇÃO DE CAE,	p.67
4.5	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS,	p.69
4.5.1	Acidez Titulável,	p.69

4.5.2 **Gordura**, p.70

4.5.3 **Caseína**, p.71

4.5.4 **Cloretos**, p.71

4.5.5 **Extrato Seco Total (EST)**, p.72

4.5.6 **Extrato Seco Desengordurado (ESD)**, p.72

4.5.7 **Índice Crioscópico**, p.72

4.5.8 **Densidade**, p.72

4.5.9 **Lactose**, p.73

5 DISCUSSÃO, p.82

6 CONCLUSÕES, p.87

7 OBRAS CITADAS, p.88

8 OBRAS CONSULTADAS, p.100

9 APÊNDICE, p.102

9.1 **QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO DAS PROPRIEDADES**, p.103

9.2 **FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS**, p.104

10 ANEXOS, p.105

10.1 **REQUISITOS SENSORIAIS E FÍSICO-QUÍMICOS PARA O LEITE DE CABRA**, p.105

10.2 **CRITÉRIOS E TOLERÂNCIAS MICROBIOLÓGICAS PARA O LEITE DE CABRA**, p.106

1 INTRODUÇÃO

O leite de cabra é um alimento nutritivo e saudável, direcionado a grupos de consumidores variados, como crianças, adultos, idosos e pessoas com restrições alimentares. Possui glóbulos de gordura menores que os do leite de vaca, o que facilita a digestão. Contém elevados teores de vitamina A, cálcio, fósforo, potássio e magnésio, com indicação na prevenção da osteoporose, manutenção de ossos, dentes e funções metabólicas e fisiológicas em todas as idades (LAGUNA, 2004). Sua composição varia de acordo com a raça, as condições ambientais, o estágio da lactação, a alimentação, o manejo, o ciclo estral, o estado de saúde, a idade, a quantidade de leite produzido e a fisiologia individual do animal (ALVES; PINHEIRO, 2004).

A indústria leiteira compreende diversas fases desde a origem do leite nas propriedades rurais até a sua chegada ao comércio varejista como produto industrializado. A fase de produção do leite nas propriedades pode ser considerada a de maior relevância para a preservação da qualidade do leite, na qual os problemas se iniciam com frequência em decorrência de mastite subclínica, sendo a queda da produção o único indicador desta problemática (GERMANO; GERMANO, 1995).

As causas de mastite são variadas, como a presença de agentes infecciosos, a utilização de agentes químicos, a ocorrência de traumas físicos, precárias condições de estabulação, higiene deficiente, ordenha incompleta (GERMANO; GERMANO, 1995; NMC, 1999a), assim como a utilização de animais mais suscetíveis, de raças especializadas e melhoradas geneticamente visando o desenvolvimento e o aumento da produção leiteira (MANSER, 1986).

A mastite clínica causa um notável e imediato declínio na produção e alterações na aparência e composição do leite (NMC, 1999a). Proteínas do soro, lipase, sódio e cloreto estarão elevados, enquanto haverá uma queda nos níveis de gordura, sólidos totais, caseína, lactose, cálcio, fósforo e potássio (HAENLEIN, 2004). A forma subclínica também resulta em queda na produção leiteira e em mudanças na composição do leite, embora a aparência deste geralmente continue normal, sendo necessário realizar exames laboratoriais como método de diagnóstico.

Os patógenos usualmente relacionados com infecções intramamárias em cabras pertencem aos gêneros *Staphylococcus*, *Mycoplasma*, *Streptococcus*, *Escherichia* e *Pseudomonas* (CONTRERAS et al., 2000), sendo *Staphylococcus* spp. o de maior prevalência em mastites clínicas e subclínicas (CONTRERAS et al. 1995; DEINHOFER; PERNTHANER, 1995; WHITE; HINCKLEY, 1999; BEZERRA et al., 2006) e *S. aureus* o patógeno de maior importância.

De acordo com vários estudos, foi detectada a presença de diferentes espécies de micoplasmas em rebanhos de caprinos no Brasil (PENHA; D'ÁPICE, 1942; NASCIMENTO; NASCIMENTO, 1982; NASCIMENTO et al., 1986; GOMES et al., 1994; NASCIMENTO et al., 2002) e nenhum agente provoca tantas perdas econômicas quanto o *M. agalactiae*, devido à imediata redução da produção de leite (AZEVEDO et al., 2006). O vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) também está amplamente disseminado em diferentes estados de Brasil (FRANKE, 1998; LEITE et al., 2004), e acarreta prejuízo real para a caprinocultura, pela diminuição da produção de leite.

A mastite caprina ocasiona significativos prejuízos econômicos em decorrência do descarte do leite, dos custos com medicamentos e assistência veterinária, da redução da quantidade e qualidade do leite e derivados lácteos (BARROS; LEITÃO, 1992; LIMA JÚNIOR et al., 1993), além de representar sério problema de saúde pública quando consumido *in natura* devido à possível veiculação de microrganismos patogênicos e resíduos de antibióticos em casos de animais tratados, podendo provocar reações alérgicas em indivíduos sensíveis, associadas freqüentemente aos betalactâmicos, particularmente à penicilina (COSTA, 1996).

Embora o incremento na produção e comercialização do leite de cabra seja uma realidade no Brasil, com a adoção de tecnologia e diversificação de produtos (leite pasteurizado, iogurte, queijos finos, bebidas achocolatadas, doce de leite, etc.), o direcionamento futuro não estará voltado para a quantidade e sim para a qualidade (EMBRAPA, 2005). A incorporação de conhecimentos e de tecnologias na prevenção e no

controle de doenças na caprinocultura leiteira poderá não só aumentar a produtividade e melhorar a saúde do rebanho, como assumir posição estratégica no processo de comercialização ao garantir a qualidade do leite e de seus produtos e oferecer segurança ao consumidor (ALVES, 2004).

No presente estudo, objetivou-se isolar e identificar os principais agentes bacterianos a partir do leite de cabras *in natura* em relação à presença de CAEV, realizar e avaliar análises físico-químicas e *California Mastitis Test* (CMT) para o diagnóstico da mastite subclínica, e verificar o perfil de resistência antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* spp.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO DE LEITE DE CABRA NO BRASIL

A cabra é a terceira espécie produtora de leite em volume de produção mundial. Estima-se que em 2006 foram produzidas 13,8 mil toneladas de litros de leite de cabra no mundo (Tabela 1), o que corresponde a 2% da produção mundial de leite (FAO, 2007). Dentre os países do continente americano, o Brasil é considerado o que apresenta a maior produção de leite de cabra, com um montante anual de 1,07% (135.000 toneladas) do total mundial no ano de 2005 (FAO, 2007).

A dinâmica da caprinocultura brasileira, no período de 1970 a 2006, revela um aumento no efetivo total de caprinos e na produção de leite de cabra, indicando a ascensão da atividade e a sua importância na contribuição do desenvolvimento socioeconômico do país. Segundo dados obtidos no Censo Agropecuário, realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2006), no ano de 2006 o efetivo de caprinos no Brasil foi de 7,1 milhões de cabeças, com produção de 21,3 milhões de litros de leite. Dentre as grandes Regiões do país, a Região Nordeste apresentou o maior efetivo de animais, com 6,5 milhões de caprinos e uma produção de 14,2 milhões de litros de leite, seguida da Região Sudeste, com 156 mil caprinos e 5,2 milhões de litros de leite. Dentre os estados da Região Nordeste, a Paraíba produziu a maior quantidade de leite de cabra em 2006, com 3,9 milhões de litros, e na Região Sudeste, o Estado de Minas Gerais atingiu um volume de 2,2 milhões de litros (Tabelas 2, 3 e 4).

Martins et al. (2006) analisaram dados gerados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e revelaram que as modificações na localização espacial do rebanho caprino no Brasil no período de 1975 a 2003 não foram significativas. Houve um aumento de 35% no efetivo total de caprinos do Brasil, assim como todas as Regiões aumentaram o número total de cabeças de caprinos em seus territórios, exceto a Região Sul. A Região Norte apresentou a maior taxa de crescimento do rebanho (224%), seguida da Região Centro-Oeste (80%). Nas Regiões Nordeste e Sudeste houve crescimento de 36% e 24%, respectivamente, do rebanho caprino.

Apesar de a Região Sudeste dispor de apenas 4% do efetivo caprino no Brasil, destaca-se pela representatividade de seus Estados no agronegócio caprino leiteiro, sendo responsável por aproximadamente 25% do total de leite de cabra produzido no país. Caracteriza-se pelo uso de sistemas de produção intensivos confinados, dispostos nas proximidades de centros urbanos. As raças leiteiras adotadas são especializadas (Saanen, Alpina e Toggenburg), ou mestiças destas raças mantidas em galpões e com alimentação fornecida no cocho (BORGES, 2006).

Tabela 1 – Produção mundial de leite de diferentes espécies animais no período de 1996 a 2006.

ESPÉCIES	PRODUÇÃO DE LEITE (mil t)			VARIAÇÃO (%)	% TOTAL
	1996	2001	2006	2006/96	2006
Vaca	467.976	498.168	549.693	17,5	84,1
Búfala	57.755	69.201	80.094	38,7	12,3
Cabra	11.710	12.805	13.801	17,9	2,1
Ovelha	8.224	8.229	8.723	6,1	1,3
Camelo	1.390	1.433	1.479	6,4	0,2
TOTAL	547.055	589.836	653.790	19,5	100

Fonte: FAO (2007), citado por ZOCCAL (2007).

Tabela 2 – Efetivo de caprinos no Brasil e por região no período de 1970 a 2006.

Ano	Brasil	Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
1970	5.708.993	31.643	5.016.941	180.224	387.853	92.332
1975	6.709.428	28.264	6.172.419	160.852	278.830	69.063
1980	7.908.147	47.556	7.279.058	149.484	361.429	70.620
1985	8.207.942	110.451	7.552.078	174.560	300.154	70.699
1995	6.590.646	83.957	6.176.457	120.754	151.296	58.182
2006	7.109.052	137.474	6.452.373	156.862	289.201	73.142

Fonte: IBGE, Censo Agropecuário 2006.

Tabela 3 – Produção total de leite de cabra no Brasil e por região no período de 1975 a 2006.

QUANTIDADE DE LEITE DE CABRA (1.000L)						
Ano	Brasil	Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
1975	13.394	19	10.836	1.172	1.263	104
1980	25.527	134	21.987	1.364	1.936	102
1985	35.834	438	27.625	4.748	2.427	594
1995	21.900	173	15.275	4.629	1.058	765
2006	21.275	119	14.201	5.224	1.216	514

Fonte: IBGE, Censo Agropecuário 2006.

Tabela 4 – Produção de leite de cabra no Brasil segundo as Grandes Regiões Nordeste e Sudeste e respectivas Unidades de Federação em 2006.

GRANDES REGIÕES E UNIDADES DE FEDERAÇÃO	LEITE DE CABRA (1.000L)
NORDESTE	14.201
Maranhão	46
Piauí	962
Ceará	1.111
Rio Grande do Norte	2.287
Paraíba	3.995
Pernambuco	2.022
Alagoas	374
Sergipe	151
Bahia	3.254
SUDESTE	5.224
Minas Gerais	2.214
Espírito Santo	148
Rio de Janeiro	875
São Paulo	1.986

Fonte: IBGE, Censo Agropecuário 2006.

2.2 QUALIDADE DO LEITE DE CABRA

O leite é considerado o alimento mais completo que existe para o ser humano, sendo indicado na dieta de crianças, adultos, idosos e convalescentes (GERMANO; GERMANO, 1995; OLIVEIRA, 2008).

O leite da espécie caprina é definido como o produto da ordenha completa e ininterrupta em condições de higiene, de animais sadios, bem alimentados e descansados (BRASIL, 2000). O conceito de sadios refere-se a animais sem sinais clínicos de doenças e/ou sem resultados positivos em provas diagnósticas indicativas de doenças infecto-contagiosas, com bom estado de nutrição e que não estejam recebendo medicamentos capazes de deixar resíduos no leite (MAGALHÃES, 2005).

O leite de cabra é um líquido branco, puro, de odor e sabor especiais e agradáveis. A cor se deve ao fato de não apresentar caroteno (pró-vitamina A), e sim vitamina A. Não possui nenhum cheiro típico ou desagradável, mas se o apresentar é devido às más condições de higiene. O mau cheiro, denominado hírcino, é transmitido pelo bode quando este se encontra perto das cabras em lactação, impregnando-as, além de poder transmiti-lo diretamente ao leite (QUADROS, 2008).

O valor do leite como alimento está na sua composição (Quadro 1), a qual pode variar de acordo com a raça, a alimentação ou tipos de alimentos, o estágio de lactação, o clima e o próprio indivíduo. O leite caprino possui proteínas de alto valor biológico, ajudando no combate à desnutrição e no desenvolvimento normal de crianças e melhorando a nutrição em adultos. O elevado teor mineral de cálcio, fósforo, potássio e magnésio é outro atributo na prevenção da osteoporose, manutenção de ossos, dentes, funções metabólicas e fisiológicas (LAGUNA, 2004). É naturalmente rico nos ácidos graxos voláteis caprónico, caprílico e cáprico, comumente utilizados em tratamentos de pessoas com problemas de má absorção, pela habilidade de fornecer energia, além de inibir e limitar a deposição de colesterol nos tecidos e dissolver as placas deste (HAENLEIN, 2004).

Dentre as principais proteínas do leite caprino, β -lactoalbumina, α -lactoalbumina, k-caseína, β -caseína e α -caseína, a fração protéica considerada a causadora de alergia ao leite de vaca, a α -1 caseína, existe em quantidade bastante reduzida. Comparado ao leite de vaca, o leite de cabra é mais facilmente digerido devido à riqueza em extrato seco e ao menor diâmetro das suas moléculas de gordura, sendo digerido no estômago humano em

torno de 40 minutos após o seu consumo, enquanto o leite de vaca é digerido em aproximadamente duas horas e meia (ALVES; PINHEIRO, 2004).

Quadro 1. Composição do leite caprino, ovino, bovino e humano.				
Componentes	Caprino	Ovino	Bovino	Humano
Gordura (%)	3,8	7,6	3,7	4,0
Sólidos não gordurosos (%)	8,9	12,0	9,0	8,9
Lactose (%)	4,1	4,9	4,7	6,9
Proteína (%)	3,4	6,2	3,2	1,2
Caseína (%)	2,4	4,2	2,6	0,4
Cinzas totais (%)	0,8	0,9	0,7	0,3
Ca (%)	0,19	0,16	0,18	0,04
P (%)	0,27	0,14	0,23	0,06
Cl (%)	0,15	0,27	0,10	0,06
Vitamina A (UI/g de gordura)	39	25	21	32
Vitamina B1 (mg/100mL)	68	7	45	17
Vitamina B12 (mg/100mL)	210	36	159	26
Vitamina C (mg/100mL)	20	43	2	3,6
Vitamina D (UI/g de gordura)	0,7	ND	0,7	0,27
Energia (Cal/100mL)	70	105	69	68

ND: não definido

Fonte: Dados obtidos e adaptados de Ribeiro (1997) e Park et al. (2007).

A qualidade do leite de cabra é definida por seus parâmetros físico-químicos e microbiológicos e constitui uma exigência de mercado e da indústria beneficiadora. Práticas adequadas de higiene, manipulação e manejo, desde a obtenção do leite até a sua comercialização, são fundamentais para garantir mais qualidade e segurança alimentar ao consumidor (MAGALHÃES, 2005).

Parâmetros microbiológicos e físico-químicos (Anexos 10.1 e 10.2) foram estabelecidos pela Instrução Normativa N° 37 de 31 de Outubro de 2000, Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra (BRASIL, 2000), com o objetivo de fixar condições de produção, a identidade e os requisitos mínimos de qualidade

do leite de cabra destinado ao consumo humano, como por exemplo, a exigência de valores mínimos de 4,3% de lactose, 8,2% de sólidos não gordurosos e 13°D para a acidez.

A atribuição de valores ao leite por indústrias de laticínios tem se baseado em parâmetros indicativos de rendimento, como o extrato seco total (EST) ou parâmetros indicativos da saúde do rebanho, como a Contagem de Células Somáticas (CCS). O EST é representado pela gordura, açúcar, proteínas e sais minerais, sendo um indicador importante devido à exigência de padrões mínimos no leite e pela influência no rendimento de produtos lácteos, podendo-se observar que o pagamento do leite é em função do conteúdo de extrato seco, especificamente gordura e proteína (PEREIRA et al., 2005). No Brasil, não há limites máximos oficiais exigidos para a CCS no leite de cabra, havendo a necessidade da realização de estudos, a fim de verificar a aplicabilidade deste método para a espécie caprina nos rebanhos nacionais.

Os teores de EST, caseína e cloretos não foram estabelecidos pela legislação brasileira para o leite de cabra. Esses parâmetros podem ser comparados com os valores obtidos em diferentes estudos, como o de Barros e Leitão (1992), que obtiveram valores médios de 12,1%, 2,5% e 0,20% para EST, caseína e cloretos, respectivamente; Tonin e Nader Filho (2002) encontraram os teores médios de cloreto 0,18%, 0,20% e 0,22% para cabras nos estágios de lactação inicial, médio e final, respectivamente; Pereira et al. (2005), Queiroga et al. (2007) e Andrade et al. (2008) obtiveram os valores médios de 11,8%, 11,7% e 12,3% para EST, respectivamente; Prata et al. (1998) e Park et al. (2007) relataram o conteúdo de 2,4% de caseína em leite de cabra.

Conforme estabelecido na legislação vigente (BRASIL, 2000), valores inferiores a 2,9% de gordura são admitidos para as variedades de leite integral e semidesnatado, mediante comprovação de que o teor médio de gordura de um determinado rebanho não atinge esse nível. Prata et al. (1998) verificaram variações de 1,7 a 5,7% para o parâmetro gordura no leite de cabra. Os teores médios de gordura obtidos foram de 3,5% (BARROS; LEITÃO, 1992; PEREIRA et al., 2005), 3,7% (PRATA et al., 1998; ANDRADE et al., 2008), 4,6 a 5,5% (QUEIROGA et al., 1998), 4,1% (GOMES et al., 2004), 4,4% (PEREIRA et al., 2006), 3,4% (FONSECA et al., 2006; QUEIROGA et al., 2007) e 4,9% (BIRGEL JÚNIOR et al., 2007).

Os valores médios de acidez reportados por Prata et al. (1998), Pereira et al. (2005) e Queiroga et al. (2007), foram de 16,1; 16,0 e 15,2°D, respectivamente. Os valores mínimo e máximo obtidos para acidez, descritos por Prata et al. (1998), foram de 14,0 e

17,9°D. O parâmetro acidez é normalmente utilizado como indicador do estado de conservação do leite em função da relação entre a disponibilidade de lactose e a produção de ácido láctico por ação microbiana que acarreta aumento na acidez e diminuição no teor de lactose. Além da ação microbiana pode ocorrer a influência da fase de lactação das cabras, com valores maiores na fase final da lactação (QUEIROGA et al., 2007).

A lactose é um dos nutrientes mais estáveis na composição química do leite e está diretamente relacionada à regulação da pressão osmótica, de modo que a maior produção de lactose determina maior produção de leite (QUEIROGA, 2007), além de representar a base para a obtenção de produtos fermentados, como o iogurte (BRITO; BRITO, 1998). Prata et al. (1998), Queiroga et al. (1998), Gomes et al. (2004), Pereira et al. (2006), Birgel Júnior et al. (2007), Queiroga et al. (2007) e Vilanova et al. (2008), registraram os valores médios para o parâmetro lactose de 4,3%, 4,4%, 4,1%, 4,3%, 4,5%, 4,1% e 3,9%, respectivamente. A variação verificada por Prata et al. (1998) para lactose foi de 3,5% a 5,2% no leite de cabras Saanen.

A média do ponto de congelamento obtida por Prata et al. (1998), no leite caprino, foi de -0,574°H, enquanto Barros e Leitão (1992) obtiveram o valor médio de -0,620°H. A variação no índice crioscópico obtida por Prata et al. (1998) foi de -0,555 a -0,592°H.

Os valores médios observados por Prata et al. (1998), Pereira et al. (2005) e Queiroga et al. (2007), para a densidade a 15°C no leite de cabra, foram de 1032,4; 1030,2 e 1031,7g/L, respectivamente. E uma amplitude de 1028,2 a 1035,5g/L foi relatada por Prata et al. (1998), no leite de cabras Saanen.

As diferenças existentes entre manejos e tipos de ordenha são refletidas na CCS e no *California Mastitis Test* (CMT). Rebanhos submetidos a boas técnicas de ordenha, desinfecção de tetos pré e pós ordenha, secagem adequada das fêmeas, tratamento com antibiótico para mastite clínica, além de preocupação com a higiene e suplementação mineral adequada demonstram baixos índices de mastite e conseqüentemente baixa CCS e reações negativas ou discretas no CMT (BARKEMA et al., 1998; BARBOSA et al., 2002).

Silva et al. (2001) e Bezerra et al. (2006) obtiveram resultados satisfatórios no CMT como teste de triagem da saúde da glândula mamária, embora ressaltassem que para evitar resultados falso-positivos e devido à fisiologia da glândula mamária da espécie caprina, deve ser associado ao exame microbiológico do leite.

Vianni e Fontana (1999) obtiveram valores de $2,73 \times 10^6$ células/mL pela microscopia direta e de $7,09 \times 10^6$ células/mL pela contagem eletrônica para células

somáticas a partir do leite de cabras positivas no CMT, e valores de $1,31$ e $2,35 \times 10^6$ células/mL pelas contagens direta e eletrônica, respectivamente, para cabras negativas no CMT. Os resultados do CMT acompanharam em ordem crescente as contagens por microscopia direta e eletrônica. Silva et al. (2001) obtiveram os valores médios para a CCS por microscopia direta de $5,32 \times 10^6$ células/mL para os escores 2+ e 3+ no CMT e de $0,78 \times 10^6$ células/mL de leite para os escores negativo, traços e 1+ no CMT.

A indústria leiteira compreende diversas fases, desde a origem do leite, nas propriedades rurais, até a sua chegada ao comércio varejista como produto industrializado. Embora todas as fases sejam importantes para a preservação da qualidade do leite, a fase de produção é a de maior relevância (GERMANO; GERMANO, 1995), e sob o ponto de vista microbiológico representa o primeiro ponto crítico de controle no processamento de qualquer produto lácteo, uma vez que leites com contagens elevadas de microrganismos podem comprometer a qualidade de diferentes produtos, como iogurtes, bebidas lácteas e leites desidratados (OLIVEIRA, 2008).

Os problemas com a produção nas propriedades rurais iniciam-se com a ocorrência de processos inflamatórios nas mamas ou mastite das cabras, grande parte dos quais sem manifestação clínica, sendo a queda da produção o único indicador desta problemática (GERMANO; GERMANO, 1995).

2.3 MASTITE

A mastite ou inflamação da glândula mamária é caracterizada por alterações físicas, químicas e bacteriológicas do leite, e por distúrbios patológicos do tecido glandular (GERMANO; GERMANO, 1995). É considerada a doença que acarreta os maiores prejuízos econômicos à produção leiteira, pela redução da quantidade ou perda total da capacidade secretora da glândula mamária e pelo comprometimento da qualidade do leite produzido para a fabricação de produtos derivados. Pode ser causada por diferentes fatores como microrganismos e suas toxinas, traumas físicos e agentes irritantes, mas na maioria dos casos é resultante da invasão de microrganismos patogênicos através do canal da teta, podendo ser classificada como clínica ou subclínica (NMC, 1999b).

Os riscos para o consumidor não se referem apenas à presença de patógenos no leite, os quais serão destruídos mediante tratamentos térmicos adequados, e sim à presença

de toxinas termoestáveis, as quais persistem nos produtos lácteos elaborados com o leite de animais infectados após a pasteurização e a esterilização (CONTRERAS et al., 2001).

A resposta inflamatória que se desenvolve no interior do úbere tem a finalidade de destruir ou neutralizar os agentes infecciosos, suas toxinas e permitir que a glândula mamária retome a sua produção normal. Pode ocorrer destruição de células epiteliais, responsáveis pela síntese dos principais constituintes do leite, como proteína, gordura e lactose, com redução da capacidade produtiva do animal (BRITO et al., 2002).

Segundo o *Nacional Mastitis Council* (1999a), a mastite clínica causa um notável e imediato declínio na produção e alterações na aparência e composição do leite. O úbere pode encontrar-se edemaciado, quente, endurecido e dolorido, e o leite apresentar grumos, pus e estrias de sangue. Haenlein (2004) ressalta que componentes do leite como proteínas do soro, lipase, sódio e cloreto estarão elevados em casos de mastite, enquanto haverá uma queda nos níveis de gordura, sólidos totais, caseína, lactose, cálcio, fósforo e potássio.

A mastite subclínica resulta em queda na produção leiteira e em mudanças na composição do leite, embora a aparência deste geralmente continue normal, sendo necessário realizar o exame bacteriológico como método de identificação definitivo. Segundo Germano e Germano (1995) pode haver diminuição no teor de gordura, além de alteração da qualidade do teor de proteínas, ou seja, menos caseína e mais proteínas solúveis.

Conforme descrito por Brito e Brito (1998) a diminuição da concentração total de gordura pode causar alterações físicas no creme, na textura e aumentar o tempo necessário para a produção de manteiga. O aumento da concentração de ácidos graxos livres em consequência da mastite pode alterar o sabor de produtos fermentados e inibir as culturas lácteas utilizadas na preparação dos mesmos. Os teores de caseína, cálcio e fósforo reduzidos influenciam a capacidade de coagulação do leite para a produção de queijos, assim como a concentração de substâncias minerais alterada resulta na diminuição do valor nutritivo do leite.

2.3.1 Etiopatogenia da Mastite Caprina

A etiologia da mastite é complexa e multivariada. A identificação dos microrganismos que causam infecção na glândula mamária é importante tanto para a

adoção de métodos de controle e prevenção, quanto para o monitoramento dos rebanhos (BRITO; BRITO, 1999).

2.3.1.1 *Staphylococcus* spp.

O patógeno de maior ocorrência em mastites caprinas é o *Staphylococcus* spp. (CONTRERAS et al., 1995; CONTRERAS et al., 1999; WHITE; HINCKLEY, 1999; CONTRERAS et al., 2000), tanto para a forma clínica como subclínica da doença.

Segundo Contreras et al. (2000), *S. aureus* é descrito como a principal causa de mastite gangrenosa e pode estar envolvido em casos subclínicos persistentes. Assume grande importância na microbiologia de alimentos como agente de intoxicações alimentares devido à produção de enterotoxinas termoestáveis, servindo como indicador higiênico-sanitário na indústria alimentícia, visto que o manipulador de alimentos representa a principal fonte e veículo deste microrganismo (FREIRAS et al., 2004).

A intoxicação alimentar estafilocócica é atribuída à ingestão de toxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante sua multiplicação no alimento, representando um risco à saúde pública. A toxina, por ser termoestável, pode permanecer no alimento mesmo após tratamento pelo calor, favorecendo a ocorrência de intoxicação, caracterizada clinicamente por náuseas, vômito, mal-estar, debilidade geral, diarreia, cefaléia e dor abdominal (MURRAY et al., 1992).

Staphylococcus coagulase negativa (SCN) são os patógenos de maior prevalência em mastite subclínica (DEINHOFER; PERNTANER, 1995; CONTRERAS et al., 1999; CONTRERAS et al., 2000) e embora sejam menos patogênicos que o *S. aureus*, podem produzir mastite subclínica persistente, aumentar significativamente a CCS e diminuir a produção de leite, além de causar mastite clínica. As espécies mais comumente isoladas compreendem *S. epidermidis*, *S. caprae*, *S. simulans*, *S. chromogenes* e *S. xylosum*; e as isoladas com menor frequência são *S. lentus*, *S. capitis*, *S. lugdunensis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. arlettae*, *S. warneri*, *S. sciuri*, *S. hyicus*, *S. auricularis* e *S. cohnii*.

Um dos principais indicadores de enterotoxigenicidade de estafilococos é o teste da coagulase, no entanto, diferentes estudos detectaram SCN enterotoxigênicos nas mãos de manipuladores de alimentos, no leite e seus derivados. Mariano (2000) avaliou cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de leite de cabra para a produção de enterotoxinas pelo teste

de Sensibilidade Ótima em Placas e obteve resultado positivo para diferentes espécies de SCN: *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. chromogenes*, *S. lugdunensis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. simulans*, *S. caprae*, *S. warneri* e *S. epidermidis*.

A detecção de cepas de espécies de *Staphylococcus* produtoras de enterotoxinas a partir de diferentes sítios como palma das mãos, leitos subungueais, fossas nasais e orofaringe de manipuladores de um laticínio de queijo de leite de cabra foi realizada por Rapini et al. (2005). Cepas coagulase positiva (*S. aureus*) e negativa (*S. epidermidis*, *S. cohnii*) produziram enterotoxinas, o que representa possibilidade de veiculação para os queijos, com risco à saúde dos consumidores.

Barros e Leitão (1992) avaliaram o leite de cabras infectadas experimentalmente com *S. aureus* pela análise de parâmetros físico-químicos e demonstraram diminuição significativa para densidade, acidez, EST, extrato seco desengordurado (ESD) e lactose, assim como os percentuais de proteínas (total e caseína) e aumento significativo para índice crioscópico e cloretos.

Aumento significativo na CCS e alterações clínicas na glândula mamária foram relacionados à presença de *S. epidermidis* e *S. simulans*, respectivamente (DEINHOFER; PERNTHANER, 1995), assim como infecção persistente pela presença de *S. epidermidis* (CONTRERAS et al., 1999).

2.3.1.2 *Streptococcus* spp., Bacilos Gram negativos e outros microrganismos

Segundo Contreras et al. (2000), *Streptococcus* spp. e bacilos Gram negativos (BGN) ocorrem com menor frequência em rebanhos caprinos, embora sejam considerados patógenos importantes e responsáveis por casos clínicos severos, com destaque para *S. agalactiae* e *Streptococcus* do Grupo C. Dentre os BGN causadores de infecções intramamárias mais frequentemente isolados destacam-se *Escherichia coli* e *Pseudomonas* spp.

Contreras et al. (1995) estudaram a prevalência e a etiologia da mastite subclínica a partir de 369 amostras de leite de cabra, com o isolamento de 69 cepas representadas por *Staphylococcus* spp. (71,0%), *Corynebacterium* spp. (12,0%), *Mycoplasma* spp. (9,0%), *Pasteurella* spp. (3,0%), *Enterobacteriaceae* (3,0%) e *Streptococcus* spp. (1,0%).

Deinhofer e Pernthaner (1995) avaliaram 2.243 amostras de leite de cabras sem evidência de mastite clínica e obtiveram 402 amostras positivas no cultivo, com o

isolamento de *Staphylococcus* spp. (89,3%), *Streptococcus* spp. (9,0%), *Pasteurella* spp., *E. coli* e *Actinomyces* spp. (< 1,7%). Os autores relataram aumento significativo na CCS relacionado à presença de *S. epidermidis* e alterações clínicas na glândula mamária pela presença de *S. simulans*.

Contreras et al. (1999) investigaram 538 amostras de leite de cabra provenientes de um rebanho em que a prevalência de mastite clínica nos 10 anos que antecederam o estudo situava-se entre 0% e 2% de casos clínicos por ano. Das 538 amostras, 121 (39,7%) foram positivas no cultivo, com o isolamento de *Staphylococcus* spp. (95,7%), *Streptococcus* spp. (1,4%), *Enterobacteriaceae* (0,9%) e *Bacillus* spp. (0,5%). Mediante avaliação de fatores envolvidos com a CCS descreveram a presença de *S. epidermidis* relacionada ao aumento da CCS assim como a causa de infecção persistente.

Vianni e Fontana (1999) isolaram cepas de *Staphylococcus* spp. (75,0%) e *Streptococcus* spp. (22,0%) a partir de 200 amostras de leite de cabras positivas no CMT, enquanto White e Hinckley (1999) obtiveram 1.061 cepas a partir de 2.911 amostras de leite de cabra: *Staphylococcus* spp. não-hemolíticos (38,2%), *S. aureus* (11,0%), *Streptococcus* spp. (4,1%), *E. coli* (1,6%) e *Pseudomonas* spp. (1,2%).

Bezerra et al. (2006) observaram 101 (50,5%) amostras positivas dentre as 200 amostras de leite de cabra submetidas ao exame bacteriológico. As cepas isoladas compreenderam: SCN (76,2%), *Corynebacterium* sp. (5,9%), *Staphylococcus* coagulase positiva (3,9%), *Serratia* sp. (3,9%), *Streptococcus* sp. (2,9%), *E. coli* (2,9%), *Actinomyces* sp. (0,9%), *Bacillus* sp. (0,9%), *Pasteurella* sp. (0,9%) e *Micrococcus* (0,9%).

Ribeiro et al. (2007) relataram pela primeira vez no Brasil a ocorrência de mastite gangrenosa caprina atípica causada pela co-infecção por *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e *Escherichia coli*.

2.3.1.3 *Mycoplasma* spp.

As micoplasmoses são enfermidades infecciosas de distribuição mundial, causadas por microrganismos da Classe Mollicutes e dos gêneros *Mycoplasma* e *Ureaplasma*, que acometem diversas espécies de animais domésticos (COTTEW, 1979) e diferem das bactérias convencionais por não possuírem parede celular. Estabelecem infecções persistentes quando patogênicos, com predileção pelas mucosas respiratória, ocular ou genital (ROSENBUSCH, 1994).

A Pleuropneumonia Contagiosa Caprina (PPCC) causada pelo *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae*, e a Agalaxia Contagiosa dos Caprinos e Ovinos (ACCO), pelo *M. agalactiae*, são doenças de notificação obrigatória conforme estabelecido pela “World Organization for Animal Health” – OIE (2008), que ao lado de outras micoplasmoses são reconhecidas mundialmente como causadoras de perdas econômicas vultosas, representadas principalmente pela morte de crias e pela redução ou parada da produção de leite.

Segundo DaMassa et al. (1992), Bergonier et al. (1997) e Madanat et al. (2001), as principais espécies do gênero *Mycoplasma* comumente relacionadas com casos de mastite compreendem *M. agalactiae* (*Ma*), *M. mycoides* subsp. *mycoides* “Large Colony” (*MmmLC*), *M. capricolum* subsp. *capricolum* (*Mcc*), *M. mycoides* subsp. *capri* (*Mmc*) e *M. putrefaciens* (*Mp*). No que tange a produção leiteira, o prejuízo econômico advém da queda ou ausência da produção de leite, alterações na coloração do leite, podendo variar desde claro (aquoso) a amarronzado, ou apresentar-se com aspecto de soro sangüíneo com presença de grumos, ou seja, impróprio para o consumo e inadequado para a indústria láctea. O odor nem sempre é alterado, porém na presença de *Mp* forma-se um odor pútrido.

A transmissão de *MmmLC*, *Mmc*, *Mcc*, *Ma* ou *Mp* ocorre mais comumente em caprinos jovens pela ingestão de colostro ou leite contaminado, e em adultos pelo contato direto ou indireto com secreções respiratórias, fezes e urina, aerossóis e fômites contaminados (DaMASSA et al., 1992; BERGONIER et al., 1997).

O estudo de Bergonier et al. (1997) elucidou que vetores como ácaros que parasitam o conduto auditivo externo, carrapatos e pulgas podem carrear micoplasmas entre animais do rebanho, uma vez que mantém contato direto com as secreções e excretas de animais. Ribeiro et al. (1995) isolaram *Mycoplasma* spp. de exemplares do ácaro *Railletia caprae* coletados do conduto auditivo externo de caprinos, com a identificação de *M. mycoides* subsp. *mycoides* e *M. arginini* pelos testes de imunofluorescência direta e de inibição de crescimento, confirmando a veiculação da bactéria pelo ácaro entre animais do rebanho.

No Brasil, o primeiro diagnóstico de micoplasmose foi realizado por Penha e D’ápice (1942), a partir de um surto de pneumonia em cabritos e mastite em cabras, com o isolamento de um micoplasma tipificado naquela época como *Ma*. Diferentes espécies de micoplasmas foram isoladas e identificadas posteriormente em nossos rebanhos caprinos, como *M. ovipneumoniae*, no Estado do Rio de Janeiro (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 1982); *Mmc* e *MmmLC* (NASCIMENTO et al., 1986), *M. arginini*, nos Estados do Rio

Grande do Sul (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 1982) e Rio de Janeiro (GOMES et al., 1994); *Ma* no Estado da Paraíba (NASCIMENTO et al., 2002); *M. conjunctivae* no Estado de São Paulo (GREGORY et al., 2003).

O isolamento de micoplasmas a partir de amostras de leite tem sido relatado em diferentes estudos. DaMassa (1983) identificou *Ma* como o agente etiológico de mastite clínica em cabra; DaMassa et al. (1987) detectaram *Mp* como o agente causador de um surto de mastite e artrite que culminou na morte de 700 caprinos; Contreras et al. (1995) isolaram *Mycoplasma* spp. em leite de cabras com mastite subclínica, enquanto Egwu et al. (2001) identificaram *Ma*, *Mcc*, *M. bovis* e *MmmLC* em cabras com mastite clínica e *Ma* e *Mcc* em cabras com mastite subclínica; De La Fe et al. (2005) avaliaram amostras de leite de cabras provenientes de área endêmica para ACCO e constataram a presença de *MmmLC*, *Ma* e *M. arginini*; Al-Momani et al. (2006) identificaram *Mp*, *MmmLC*, *Mcc* e *Ma* em leite de cabras com mastite clínica; Azevedo et al. (2006) identificaram *Ma* como o agente causador de um surto de mastite, agalaxia e poliartrite em cabras e Contreras et al. (2008) detectaram *Ma* e *MmmLC* em amostras de leite de cabra provenientes de tanques, onde constataram que a CCS foi significativamente maior em amostras de tanques de leite com a presença de *Mycoplasma* spp. comparada com amostras de tanques livres do agente.

2.3.1.4 Vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV)

Os pequenos ruminantes podem ser infectados por um grupo de lentivírus denominado Lentivírus dos Pequenos Ruminantes (LVPR), que compreende vários isolados distribuídos basicamente em dois grupos filogenéticos, cujos protótipos são os vírus Maedi-Visna (MVV) e Artrite Encefalite Caprina (CAEV). Os LVPR têm sido identificados em diversos países, com prevalências mais elevadas naqueles em que a ovinocultura e a caprinocultura são mais tecnificadas. As perdas econômicas decorrem da diminuição da produção leiteira, predisposição da glândula mamária às infecções bacterianas, retardo no crescimento das crias, desvalorização comercial dos produtos de criatórios com animais positivos e despesas com programas de controle (FRANKE, 1998; OIE, 2000).

A Artrite Encefalite Caprina (CAE) é uma doença infecciosa, geralmente de caráter crônico, causada por um RNA vírus, pertencente ao gênero *Lentivirus* da família Retroviridae e subfamília Lentivirinae. A doença apresenta ampla distribuição mundial e

está incluída na lista de doenças de notificação obrigatória estabelecida pela “World Organization for Animal Health” – OIE (2007).

No Brasil, a doença encontra-se disseminada em rebanhos caprinos conforme os estudos de Moojen et al. (1986), Cunha e Nascimento (1995), Melo e Franke (1997), Franke (1998), Sell (2000), Almeida et al. (2001), Callado et al. (2001), Pinheiro et al. (2001), Santini et al. (2002), Batista et al. (2004), Leite et al. (2004) Frota et al. (2005), Silva et al. (2005) e Lilenbaun et al. (2007), com vários Estados acometidos: Rio Grande do Sul, Bahia, Ceará, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Pernambuco, Maranhão, Pará, Piauí, Paraná, Paraíba, Santa Catarina, Goiás e Rio Grande do Norte.

Os animais infectados são o reservatório e a fonte de infecção do CAEV e a transmissão do agente infeccioso, entre caprinos, ocorre mais comumente pela ingestão de colostro e leite contaminados, além do contato com secreções ou excreções ricas em células do sistema monocítico-fagocitário, como secreções respiratória e urogenital, fezes, saliva e leite contaminado dos copos de ordenhadeiras mecânicas. Apesar de ocorrer eliminação do vírus pelo sêmen, não há comprovação de transmissão por monta natural ou inseminação artificial (FRANKE, 1998; CALLADO et al., 2001; OIE, 2007).

O CAEV persiste no organismo por toda a vida do animal, havendo a possibilidade da viremia ser permanente, o que facilitaria a transmissão do agente por fômites, agulhas, tatuadores, aplicadores de brincos e material cirúrgico contaminado com sangue de animal infectado (CALLADO et al., 2001).

Caprinos de várias raças, idades e de ambos os sexos podem ser acometidos pelo CAEV, e a frequência de soropositivos é maior em animais mais velhos, embora rebanhos com alta taxa de infecção possam apresentar soroprevalência elevada entre animais jovens (CALLADO et al., 2001). A transmissão cruzada entre espécies é rara, no entanto, ovinos podem ser infectados por CAEV e caprinos por MVV em condições naturais, o que possibilita a recombinação de amostras selecionadas e adaptadas a diferentes hospedeiros, com a eventual aquisição de novas propriedades biológicas e emergência de amostras mais virulentas ou de mais fácil transmissão (OIE, 2007).

A infecção por CAEV, geralmente subclínica e persistente, pode causar afecção multissistêmica, de evolução geralmente crônica, com agravamento progressivo das lesões, perda de peso, debilidade e até mesmo resultar na morte do animal. As formas clínicas descritas compreendem a mamária, a respiratória, a artrítica e a nervosa (FRANKE, 1998; CALLADO et al., 2001; LARA et al., 2005; OIE, 2007).

Entre caprinos a forma artrítica é a de maior relevância, observada geralmente em animais com mais de oito meses de idade, que apresentam aumento na consistência e no tamanho das articulações, com lesões degenerativas e inflamatórias típicas, que resultam em claudicação intensa, dificuldade de locomoção e adoção de posições anômalas decorrentes de dor, como observado por Lara et al. (2005) e Gregory et al. (2006).

A forma mamária é freqüente e tem grande significado econômico devido ao comprometimento da produção de leite e predisposição da glândula mamária a infecções secundárias, podendo acarretar em mastite aguda ou crônica. O processo inflamatório crônico determina uma mastite intersticial com endurecimento do úbere e a aparência macroscópica do leite pode não revelar qualquer tipo de anormalidade. Lara et al. (2005) constataram a forma clínica em cabras caracterizada pela presença de nódulos e endurecimento difuso no parênquima da glândula mamária.

Birgel Junior et al. (2007) avaliaram diferentes parâmetros físico-químicos e a CCS do leite de cabras em que não houve isolamento bacteriano. Descreveram alterações em cabras reagentes ao CAEV sem alterações na consistência da glândula mamária como o aumento do percentual de cloretos, e em cabras reagentes ao CAEV com endurecimento difuso da glândula a diminuição nos teores de lactose, proteína, gordura e sólidos totais; os valores obtidos para o número de células somáticas no grupo de cabras infectadas pelo CAEV foram estatisticamente maiores do que os valores obtidos nas cabras não reagentes ao antígeno do CAEV.

A apresentação clínica pulmonar é rara e de pouca gravidade nesta espécie, refletida por tosse seca e dispnéia, achados histopatológicos de pneumonia intersticial e broncointersticial. A forma nervosa tem sido relatada em cabritos de um a quatro meses de idade, e com menor freqüência em caprinos adultos associada à forma artrítica. Os animais podem apresentar leucoencefalomielite caracterizada por sintomas de fraqueza muscular, paresia, ataxia de membros posteriores, cegueira, nistagmo, salivação, tremores e inclinação da cabeça (OIE, 2007).

2.3.2 Diagnóstico da Mastite Bacteriana Caprina

O diagnóstico do processo inflamatório da glândula mamária inicia-se com a inspeção do úbere, feita pela palpação para a detecção de anormalidades no tecido mamário, como a presença de nódulos difusos no parênquima, consistência endurecida da

glândula e aumento da temperatura local, assim como pela inspeção visual do leite, realizada pelo uso da Caneca Telada ou Tamis para a visualização de alterações macroscópicas no leite, como grumos, pus, estrias de sangue ou coloração alterada (NMC, 1999b). Nas formas agudas e crônicas observa-se o aparecimento súbito de febre (40° a 42°C), perda de apetite, apatia, dispnéia e dificuldade locomotora (KIRK; GLENN, 1996 citado por MOTA, 2008).

A mastite na forma subclínica pode ser detectada pela contagem direta ou indireta de células somáticas no leite, sendo o CMT um dos testes mais aplicados, devendo ser realizado antes da ordenha, logo após o descarte dos primeiros jatos de leite. Este método utiliza um detergente que ao reagir com o material genético das células somáticas forma um gel que tem a sua consistência graduada em escores aritméticos, sendo 0, 1, 2, 3 e 4 para as reações negativo (sem reação entre o reagente e o leite), traços (suspeita), 1+ (fracamente positiva), 2+ (positiva) e 3+ (fortemente positiva), respectivamente (SANTOS et al., 1995; SILVA et al., 2001), representado pela média de neutrófilos por mililitro de leite (Tabela 5). No entanto, para evitar resultados falso-positivos e devido à fisiologia da glândula mamária da espécie caprina, o CMT deve ser associado ao exame microbiológico do leite (SILVA et al., 2001; BEZERRA et al., 2006; CHAPAVAL, 2007), que tem como objetivo a identificação do agente etiológico mediante cultivo e posterior prova de sensibilidade a antimicrobianos (MOTA, 2008).

Tabela 5. Interpretação dos escores do *California Mastitis Test* (CMT) em leite de cabra.

Escore do CMT	Reação do teste	Média de neutrófilos por mL
0	Sem reação	68.000
1	Reação leve com tendência a desaparecer	268.000
2	Grumos sem gelificação	800.000
3	Imediata formação de gel	2.560.000
4	Gelificação e aderência	10.000.000

Fonte: Dados obtidos e adaptados de Chapaval (2008).

A análise bacteriológica do leite é tradicionalmente realizada pela semeadura das amostras de leite em meios de cultura não seletivos como o Ágar Sangue, e em meios seletivos, como o Ágar Eosina Azul de Metileno e o Ágar MacConkey. Os agentes bacterianos isolados são identificados por meio das características morfológicas, tintoriais e bioquímicas (EDWARDS; EWING, 1972; JANG et al., 1988; NMC, 1999a).

2.3.2.1 Micoplasmas

O diagnóstico laboratorial da micoplasmose é realizado pelo isolamento do agente em meios de cultura específicos (FREUNDT, 1983) a partir de diferentes espécimes clínicos (leite, líquido articular, sangue, fragmentos de tecidos e órgãos, etc.), baseado nos sinais e sintomas clínicos dos animais ou suspeita clínica. Micoplasmas podem requerer intervalos maiores que 10-14 dias para o crescimento em meio sólido (WHITFORD, 1994), ou seja, um diagnóstico demorado, que prejudica em casos que necessitem a adoção imediata de medidas de controle da disseminação da doença, como ocorre em surtos.

O diagnóstico sorológico tradicional é baseado na realização de diferentes provas, como a inibição do crescimento e do metabolismo, imunofluorescência e imunoperoxidase, e os métodos mais empregados para a confirmação da doença são a Fixação do Complemento e o ELISA. A identificação sorológica é feita facilmente para *Ma* e *Mp*, no entanto, casos de reação-cruzada podem ocorrer entre *Ma*, *M. bovis* e espécies que apresentam grande similaridade genética como o grupo *mycoides*, causando dificuldades na identificação precisa do agente etiológico (BERGONIER et al., 1997; MADANAT et al., 2001; OIE, 2004).

A identificação genômica de micoplasmas de pequenos ruminantes tem sido bastante difundida pela utilização da PCR, inclusive as espécies que apresentam grande similaridade genética, conforme descrito por Dedieu et al. (1995); Tola et al. (1997); Greco et al. (2001); Peyraud et al. (2003); LeGrand et al. (2004); Almeida et al. (2005) e Al-Momani et al. (2006).

Tola et al. (1997) elucidam que um fator limitante para o cultivo inclui a acidificação progressiva do leite que pode reduzir a viabilidade do micoplasma, enquanto uma alta porcentagem de bactérias cresceria em meio ágar seletivo, prejudicando a identificação de colônias de micoplasmas. Os autores desenvolveram uma PCR para a detecção de *Ma* a partir do leite de ovelhas e obtiveram positividade em 175 amostras

contra 153 no cultivo. Os resultados da PCR foram concluídos em até cinco horas, enquanto o cultivo desprende 7-10 dias até a obtenção de colônias típicas.

Egwu et al. (2001) detectaram *Mycoplasma* spp. em amostras de leite pelo isolamento em meio de cultura específico e identificaram as espécies *Ma*, *Mcc*, *M. bovis*, *Mp* e *MmmLC* pela técnica de imunofluorescência, confirmando a infecção mista em cabras com e sem mastite clínica.

Greco et al. (2001) com a utilização de dois pares de *primers* em uma reação simples de PCR (Multiplex-PCR) detectaram em uma mesma amostra de leite de cabra *Ma* e espécies do grupo *mycoides*. Em contrapartida o cultivo realizado para a mesma amostra não detectou infecção mista, o que pode ser explicado pelo crescimento mais rápido de algumas espécies *in vitro* em prol de outras.

De La Fe et al. (2005) isolaram cepas de *Mycoplasma* spp. a partir de leite, secreção articular e auricular de caprinos em meio de cultura sólido e líquido, e identificaram diferentes espécies pela PCR com a utilização de protocolos diferenciados para *Ma*, *Mp*, *MmmLC* e *Mcc*. As espécies envolvidas foram *MmmLC*, *Ma* e *M. arginini*, ocorrendo algumas vezes como infecções mistas em diferentes rebanhos. Pelos resultados microbiológicos houve um número menor de animais positivos quando comparados com os resultados do ELISA para *Ma* e *MmmLC* obtidos em estudo prévio dos autores, o que foi explicado pela excreção intermitente do agente, baixa sensibilidade dos testes microbiológicos, uso de antimicrobianos na terapia dos animais e pela alta persistência de anticorpos.

Almeida et al. (2005) utilizaram protocolos e pares de *primers* diferenciados para a detecção de *Mycoplasma* spp. e *Ma* em leite de cabras com e sem sintomatologia clínica de ACCO e obtiveram maior positividade para *Mycoplasma* spp., o que pode ser explicado pela presença de outras espécies de micoplasma envolvidas na ACCO diferentes de *Ma*.

Al-Momani et al. (2006) obtiveram culturas mistas a partir de leite de cabra com a identificação de diferentes espécies, *Mp*, *MmmLC*, *Mcc* e *Ma*, pela PCR, enquanto Contreras et al. (2008) isolaram *Mycoplasma* spp. a partir de amostras de leite de cabra provenientes de tanques pelo cultivo, com a detecção de *Ma* e *MmmLC* pelo teste de inibição do crescimento.

2.3.3 Diagnóstico da Artrite Encefalite Caprina (CAE)

O diagnóstico clínico da CAE é realizado baseando-se no histórico e avaliação física dos animais, sendo considerados suspeitos adultos com poliartrite e/ou mastite, assim como filhotes que apresentem paresia progressiva. A confirmação pode ser realizada por diferentes testes laboratoriais, principalmente provas sorológicas para a detecção de anticorpos como a Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), ELISA e *Western Blotting* (OIE, 2007). A detecção direta da presença do vírus no organismo do caprino pode ser realizada pelo isolamento do agente etiológico em cultura celular, microscopia eletrônica e pela PCR (LARA, 2006).

A IDGA é específica, reprodutível e de fácil realização, sendo o teste indicado pela OIE. Detecta as principais proteínas do virion: “p28” e “gp135” (OIE, 2007), sendo amplamente utilizada como verificado nos estudos de Marchesin et al. (1998), Rutkoski et al. (2001), Santin et al. (2002), Batista et al. (2004), Leite et al. (2004), Frota et al. (2005), Lara et al. (2005), Gregory et al. (2006) e Birgel Junior et al. (2007).

Devido à restrição da expressão gênica, ou durante a fase inicial da infecção, vários animais infectados pelo CAEV apresentam-se como soronegativos por períodos variados. Nesses casos a PCR tem se apresentado como um método de diagnóstico alternativo na identificação de animais com sorologia negativa ou dúbia, conforme demonstrado por Marchesin et al. (1998), Rutkoski et al. (2001), Frota et al. (2005) e Gregory et al. (2006).

2.3.4 Controle e Prevenção da Mastite Caprina

Práticas realizadas na propriedade podem assegurar que o leite de cabra seja produzido por animais saudáveis sob condições adequadas e em equilíbrio com o meio ambiente, de modo a garantir proteção à saúde do consumidor e impedir que animais sejam infectados, conforme estabelecido, nos Estados Unidos, pelo *National Mastitis Council* (1999b) para o leite de vaca.

Dentre as medidas higiênicas e profiláticas recomendadas para a prevenção de mastite em rebanhos caprinos estão incluídas a identificação e o tratamento das cabras no período seco; manejo sanitário do rebanho e da sala de ordenha; mão de obra sadia, qualificada e devidamente equipada para realizar a ordenha, ou seja, com roupas adequadas

e limpas, cabelos protegidos e unhas aparadas; as mãos do ordenhador devem ser lavadas com sabão neutro e em seguida devem receber solução antisséptica; os equipamentos e utensílios utilizados na ordenha devem estar devidamente higienizados e desinfetados, mantidos em local seco e arejado; deve ser feita a antissepsia de tetos antes e após a ordenha (MAGALHÃES, 2005).

Segundo Chapaval (2007), o correto diagnóstico e o monitoramento constante dos dados são aspectos fundamentais de um programa de controle de mastite, a fim de definir as áreas prioritárias de ação e as medidas a serem adotadas, tais como: tratamento de todas as cabras no período seco; tratamento imediato de todos os casos clínicos; funcionamento adequado do sistema de ordenha; correto manejo de ordenha com ênfase na desinfecção dos tetos após a ordenha; descarte de cabras com mastite crônica; higiene e conforto na área de permanência dos animais.

O Regulamento técnico para produção, identidade e qualidade do leite de cabra, contido na Instrução Normativa N° 37 de 31 de Outubro de 2000, determina que a dependência de ordenha seja afastada de fontes de mau cheiro e/ou construções que venham a causar prejuízos à obtenção higiênica do leite, podendo ser contígua ao capril. O piso deve ser suspenso para facilitar a drenagem e a dependência deve possuir abastecimento de água potável em volume e pressão suficientes para a higienização do local e dos equipamentos com residual máximo de cloro ativo de 2mg/L (BRASIL, 2000).

O padrão de ordenha deve ser uniforme, respeitando-se a seqüência dos animais a serem ordenhados para prevenir a disseminação de microrganismos causadores de mastite: cabras sadias de primeira lactação; cabras sadias das sucessivas ordens de lactação; cabras que já apresentaram mastite; cabras com resultados positivos nos testes de mastite subclínica ou com elevada CCS e cabras com sinais clínicos de mastite em tratamento (MAGALHÃES, 2005).

Segundo Brasil (2000), o leite de cabras com mastite crônica ou em tratamento deve ser descartado, e qualquer alteração no estado de saúde desses animais capaz de modificar a qualidade do leite, justifica a condenação do produto para fins alimentícios.

Os três primeiros jatos de leite de cada teto devem ser obrigatoriamente rejeitados e recolhidos em recipiente adequado, de fundo escuro, com o objetivo de diagnosticar a mastite clínica. A lavagem de tetos deve ser evitada, exceto quando estes apresentarem-se visualmente sujos (esterco, barro, etc.). A antissepsia inicial é realizada pela imersão dos

tetos em solução antisséptica, como o iodo a 0,5-1%; hipoclorito de sódio a 0,5%; clorexidine a 0,5% ou cloreto de benzalcônio a 1% (MAGALHÃES, 2005).

Após a aplicação da solução antisséptica é realizada a secagem dos tetos com toalha de papel individual descartável, evitando-se a contaminação do leite com o antisséptico e o deslizamento das teteiras. Diferentes fatores podem ocasionar inflamações no tecido mamário, como a utilização de copos de ordenhadeiras mal ajustados, velhos, sem flexibilidade ou deixados por muito tempo nos tetos; vácuo muito intenso ou irregular e pulsações muito rápidas ou deficientes por oscilação de voltagem (GERMANO; GERMANO, 1995).

A ordenha deve ser completa a fim de evitar leite residual e conseqüente mastite subclínica ou crônica, uma vez que o leite retido na cisterna do úbere constitui excelente meio de cultura, propiciando o desenvolvimento de microrganismos. Ao final da ordenha é realizada a imersão completa dos tetos em solução iodoglicerinada, devido à exposição do esfíncter da glândula mamária que se encontra aberto a diferentes agentes microbianos (MAGALHÃES, 2005; CHAPAVAL, 2007).

Nos plantéis suspeitos ou positivos para Agalaxia Contagiosa dos Caprinos e Ovinos (ACCO) é fundamental separar as crias imediatamente após o nascimento, evitar contato com secreções e excretas; administrar colostro termicamente tratado de mães não infectadas ou de vaca; testar os animais a intervalos regulares e separar ou eliminar os positivos; adotar a linha de ordenha e tratar os doentes em área de isolamento; manter sob quarentena animais provenientes de outras propriedades ou regiões antes de serem incorporados ao rebanho. Em países do Mediterrâneo e do Leste Europeu a profilaxia é baseada na vacinação dos caprinos contra *Ma* com vacinas vivas atenuadas ou inativadas (BERGONIER et al., 1997), as quais não foram adotadas nem recomendadas até o presente momento no Brasil.

O animal acometido pelo CAEV permanece como portador por toda a vida. O sorodiagnóstico para a identificação de animais infectados e a eliminação de soropositivos são medidas importantes no controle da enfermidade, mas insuficientes. Assim como na ACCO deve-se separar as crias imediatamente após o nascimento; evitar contato com secreções e excretas; administrar colostro termicamente tratado; testar os animais a intervalos regulares e separar ou eliminar os positivos (OIE, 2007).

No Brasil, o Regulamento Técnico do Plano Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO), pela Instrução Normativa N° 87 da Secretaria de Defesa Agropecuária,

de 10 de dezembro de 2004, foi estabelecido visando o controle e a erradicação de doenças de caprinos e ovinos, como a CAE, por meio de ações sanitárias e de vigilância epidemiológica (www.agricultura.gov.br).

2.3.5 Tratamento e Implicações

O tratamento da mastite subclínica não é recomendado devido ao baixo sucesso alcançado, assim como observado na ACCO. Em casos de infecções recorrentes ou crônicas, os animais devem ser substituídos ou descartados (MOTA, 2008), e na mastite clínica as cabras devem ser tratadas com antibióticos de largo espectro, aplicados preferencialmente pela via intramamária, esgotando-se previamente o teto afetado (MACIEL, 2006). Entretanto, o amplo e indiscriminado uso de antibióticos pode conduzir ao aumento de resistência de microrganismos a drogas antimicrobianas, e bactérias inerentemente resistentes podem tornar-se predominantes em uma população e transferir material genético para bactérias suscetíveis, que então adquirem resistência (QUINN et al., 2005).

O tratamento antimicrobiano em rebanhos leiteiros deve alertar para a possibilidade de aparecimento de resíduos no leite e representa risco à saúde pública por provocar reações alérgicas ou tóxicas nos indivíduos que ingerem o leite contaminado. As reações alérgicas se manifestam geralmente como urticárias, dermatites, rinites e asma brônquica, e estão associadas principalmente às penicilinas, mas tetraciclina, estreptomicina e sulfonamidas também podem causar esse tipo de reação (BRITO; LANGE, 2005). Em gestantes resultam em efeitos adversos nos fetos como a ototoxicidade e a alteração no desenvolvimento ósseo (COSTA, 1996).

Estudos de susceptibilidade *in vitro* de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas do leite cru de cabras à ação de diferentes antimicrobianos demonstraram maior resistência para antibióticos do grupo betalactâmico, principalmente a penicilina (LIMA JÚNIOR et al., 1993; BOCHEV, RUSSENOVA, 2005).

Segundo Brito e Lange (2005), o principal problema para a indústria de laticínios, decorrente de resíduos de antimicrobianos no leite, é a inibição de culturas lácteas sensíveis utilizadas na fabricação de queijos, iogurtes e outros produtos fermentados, dificultando a obtenção destes produtos ou alterando a sua qualidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES LABORATORIAIS

As análises laboratoriais foram realizadas na Universidade Federal Fluminense (UFF) nos Laboratórios de Epidemiologia Molecular e Doenças Infecciosas da Faculdade de Veterinária, Niterói, RJ; Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) / Unidade Maracanã, RJ e no Laboratório de Biologia Animal, Setor de Bacteriologia, PESAGRO-RIO, Niterói, RJ.

3.2 MODALIDADE DE ESTUDO E AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

O presente estudo foi realizado pelo método epidemiológico observacional transversal, e a seleção dos rebanhos feita por conveniência (amostragem probabilística), mas em cada rebanho os caprinos foram selecionados ao acaso. Os resultados obtidos foram apresentados na forma de gráficos e tabelas, pela análise estatística descritiva simples, utilizando-se o programa Excel (Microsoft® Office 2003). Os dados quantitativos foram avaliados estatisticamente pela Análise de Variância (ANOVA) ou t-Student, e posterior Teste de Tukey para comparação entre as médias. Os dados obtidos em frequência foram analisados pelo Qui-quadrado para comparar proporções, conforme Martin et al. (1994) e Thrusfield (2003).

3.3 PROPRIEDADES, REBANHOS E SISTEMAS DE ORDENHA

Neste estudo foram utilizados espécimes clínicos de 129 cabras obtidos, de 11 propriedades, identificadas alfabeticamente de A a K, localizadas em Niterói, Nova Friburgo e Paracambi no Estado do Rio de Janeiro e em Além Paraíba, Belmiro Braga, Coronel Pacheco, Leopoldina e Viçosa em Minas Gerais (Tabela 6). Os rebanhos eram constituídos de animais puros e/ou mestiços das raças Saanen e Parda Alpina (Figuras 1, 2 e 3), com ou sem sintomatologia clínica de mastite, em diferentes estágios de lactação e submetidos à ordenha matinal do tipo manual (Figura 4) ou mecânica (Figura 5).

A obtenção de dados específicos sobre as propriedades e os rebanhos foi realizada pelo preenchimento de um questionário (Apêndice 9.1) pelos proprietários de cada unidade observacional deste estudo. Foi elaborada uma ficha (Apêndice 9.2) para a coleta de dados de cada animal com a finalidade de facilitar o recolhimento de informações sobre a idade, a raça, o número de lactações, a presença de mastite clínica ou subclínica, além de sinais clínicos que fossem observados antes da ordenha.

Tabela 6. Distribuição de animais por municípios e estados, sistema de ordenha adotado por propriedade e número de cabras avaliadas.

Propriedade	Município / Estado	Sistema de ordenha	Cabras (n)
A	Paracambi / RJ	manual	7
B	Coronel Pacheco / MG	manual	12
C	Belmiro Braga / MG	mecânico	10
D	Nova Friburgo / RJ	mecânico	10
E	Leopoldina / MG	manual	10
F	Além Paraíba / MG	manual	10
G	Além Paraíba / MG	manual	10
H	Leopoldina / MG	manual	10
I	Coronel Pacheco / MG	manual	10
J	Viçosa / MG	mecânico	20
K	Niterói / RJ	mecânico	20
TOTAL			129



Figura 1. Cabras mestiças das raças Saanen e Parda Alpina no capril da propriedade A, Paracambi, RJ.



Figura 2. Cabras mestiças das raças Saanen e Parda Alpina no capril da propriedade J, Viçosa, MG.



Figura 3. Cabras Saanen no capril da propriedade K, Niterói, RJ.



Figura 4. Ordenha manual na propriedade A, Paracambi, RJ.



Figura 5. Ordenha mecânica na propriedade K, Niterói, RJ.

3.4 DETECÇÃO DE MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA A CAMPO

3.4.1 Teste da Caneca Telada

O diagnóstico de mastite clínica foi realizado pelo exame clínico do animal, da glândula mamária, e retirada dos três primeiros jatos de leite em caneca telada (Tamis), conforme recomendado pelo *National Mastitis Council* (1999b) para a observação de alterações macroscópicas do leite, como grumos, coágulos, pus, sangue e leite aquoso.

3.4.2 *California Mastitis Test* (CMT)

Para o diagnóstico de mastite subclínica foi aplicado o CMT em cada metade mamária, individualmente, em bandeja apropriada, onde foram misturados 2,0 mL de reagente (CMT – Solução uso veterinário, Tadabras[®] 0,02g de Violeta de Bromocresol e veículo q.s.p. 100 mL) e 2,0 mL de leite, com agitação em movimentos circulares, mantendo-se a placa na horizontal durante aproximadamente 1 minuto, conforme recomendação do fabricante. Escores aritméticos foram atribuídos às diferentes reações do CMT, determinadas pela viscosidade formada entre o reagente e o leite, sendo 0, 1, 2, 3 e 4

para as reações negativas (sem reação entre o reagente e o leite), traços (suspeita), 1+ (fracamente positiva), 2+ (positiva) e 3+ (fortemente positiva), respectivamente.

3.5 COLETA DE ESPÉCIMES CLÍNICOS

As 129 amostras de leite foram coletadas na ordenha matinal, precedida da higienização e antissepsia dos tetos, os quais foram lavados com água e sabão neutro, secos com papel toalha, imersos individualmente em solução iodada (Westfalia[®]), secos com papel toalha e recebiam uma aplicação de álcool a 70% com o auxílio de algodão no orifício da teta, conforme recomendado pelo *National Mastitis Council* (1999a). Foram coletados, por animal, 50 mL de leite (mistura dos dois tetos) em frascos estéreis com tampa de rosca, 250 mL de leite (mistura dos dois tetos) em frascos plásticos descartáveis, e 5,0 mL de sangue, pela punção da veia jugular, utilizando-se seringa estéril. Os espécimes clínicos foram acondicionados em caixa isotérmica com gelo e encaminhados ao Laboratório de Doenças Infecciosas da Faculdade de Veterinária da UFF e ao LANAGRO / RJ, no prazo de até 24 horas.

3.6 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

3.6.1 Cultivo e isolamento

Alíquotas de 0,01 mL de cada amostra de leite foram semeadas em placas de Petri contendo Ágar Sangue (AS) ovino a 5% (base Oxoide[®]) e *Eosine Methylene Blue Agar* (EMB) (Difco[®]), promovendo-se a semeadura por estrias em toda a superfície das placas, que eram em seguida incubadas em condições de aerobiose a 37°C por 24 a 48 horas (JANG et al., 1988). A presença de três ou mais colônias idênticas classificava os cultivos como bacteriologicamente positivos (DEINHOFER; PERNTHANER, 1995).

As amostras de leite também foram examinadas para a presença de *Mycoplasma* spp., pela inoculação de 0,2 mL de leite em meio sólido Hayflick modificado (FREUNDT, 1983) e 0,2 mL de leite em 2,0 mL de meio Hayflick modificado, seguido de incubação a 37°C por até 10 dias em ambiente de microaerofilia (CONTRERAS et al., 1995) e avaliação diária da presença ou não de colônias típicas no formato mamilar em microscópio estereoscópico. O restante do leite foi acondicionado em frascos individuais

contendo glicerina a 50% (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 1984) e estocado a -20°C para uso na PCR.

3.6.2 Identificação bacteriana

Os agentes bacterianos foram identificados por meio de características morfológicas, tintoriais e bioquímicas. A identificação de cocos Gram positivos e dos bacilos Gram negativos foi baseada nos estudos de Costa e Vernin (1955), Edwards e Ewing (1972), Costa e Hofer (1972), Jang et al. (1988), Oliveira (1994) e *National Mastitis Council* (1999a).

3.6.2.1 Coloração pelo Método de Gram

Após o isolamento inicial foi realizado o exame de esfregaços corados pelo método de Gram, conforme descrito por Sobreira et al. (1982), para verificar a morfologia e a coloração dos organismos isolados, separando-os em dois grupos: Gram positivos e Gram negativos.

Foi utilizada a cepa liofilizada ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus* como controle dos testes realizados para *Staphylococcus* spp., a qual após ressuspensão em *Brain Heart Infusion* (BHI) (Merck[®]), incubação em aerobiose a 37°C por 24 horas e repique em AS (37°C por 24 horas), formou colônias pigmentadas de coloração amarela e hemolíticas, que se apresentaram como cocos Gram positivos, dispostos em cachos de uva, com os resultados: catalase positiva, oxidase negativa, coagulase positiva, DNase positiva e manitol positivo.

3.6.2.2 Teste da Catalase

Cocos Gram positivos foram submetidos ao teste da catalase. O teste consistiu na adição de uma gota de solução a 3% de peróxido de hidrogênio (água oxigenada a 10 volumes) sobre uma lâmina de microscopia contendo colônias previamente transferidas com auxílio de alça de platina. A enzima catalase presente no cultivo decompõe o peróxido de hidrogênio, liberando oxigênio, observando-se a formação de bolhas. O teste permitiu a

diferenciação entre *Streptococcus* spp., catalase negativos, e *Staphylococcus* spp. e *Micrococcus* spp., catalase positivos (JANG et al., 1988; OLIVEIRA, 1994).

3.6.2.3 Teste da Oxidase

Cocos Gram positivos catalase positiva foram submetidos ao teste da oxidase, que permite medir a produção de citocromo oxidase, presente em organismos aeróbios capazes de utilizar oxigênio como um receptor de hidrogênio, para que ocorra a redução do oxigênio molecular a peróxido de hidrogênio. Colônias foram espalhadas com bastão de vidro sobre a superfície de uma fita comercial (Probac[®]) para a diferenciação entre *Staphylococcus* spp., oxidase negativo, sem alteração da coloração da fita e *Micrococcus* spp., oxidase positivo, com a formação de coloração púrpura escuro (JANG et al., 1988; OLIVEIRA, 1994).

3.6.2.4 Prova do Sal (NaCl a 6,5%) e Hidrólise da Esculina

Cocos Gram positivos catalase negativa dispostos em cadeias, foram submetidos à prova do sal (NaCl a 6,5%) e da hidrólise da esculina para a diferenciação entre os gêneros *Enterococcus* e *Streptococcus*.

A prova do sal foi realizada pela inoculação de uma colônia em caldo e em Ágar NaCl a 6,5% (Difco[®]) com o auxílio de uma alça de platina. A leitura e a interpretação da prova foram baseadas nas reações obtidas após incubação a 37°C por até 24 horas, sendo a ausência de crescimento ou turbidez no caldo característica do gênero *Streptococcus* spp., enquanto a mudança na coloração do ágar de azulado para amarelo, indicando tolerância ao sal, e a presença de turbidez ou crescimento no caldo, característica do gênero *Enterococcus* (JANG et al., 1988, NMC, 1999a).

Colônias foram inoculadas em Ágar Bile Esculina, seguido de incubação a 37°C por 48 horas. O escurecimento do meio indica resultado positivo, como observado para o gênero *Enterococcus*.

3.6.2.5 Teste da Coagulase

O teste da coagulase foi utilizado para classificar as bactérias do gênero *Staphylococcus* em coagulase positiva (patogênicas) ou coagulase negativa (NMC, 1999a). A estafiloagulase é uma enzima de natureza protéica, capaz de coagular plasma sanguíneo pela transformação de fibrinogênio em fibrina, o que propicia a proteção da bactéria contra a fagocitose e outras defesas do hospedeiro. A partir de cultivo por 24 horas em AS, três a cinco colônias de estafilococos foram transferidas para tubos de ensaio contendo 0,5 mL de plasma de coelho (Coagu Plasma Probac[®]) diluído em água destilada estéril, seguido de incubação a 37°C por até 24 horas. A leitura do teste com resultado positivo foi representada pela presença de coágulo gelatinoso e firme no fundo do tubo de ensaio.

3.6.2.6 Teste da Desoxirribonuclease (DNase)

Staphylococcus spp. foram submetidos ao teste da DNase no qual o corante azul de toluidina presente no ágar DNase, na presença de DNA intacto, permanece azul. Quando o DNA é degradado, ocorre a mudança de cor para o róseo ao redor das colônias. O teste foi realizado pela transferência de colônias isoladas em AS para tubos de ensaio contendo 3,0 mL de BHI, seguida de incubação a 37°C *overnight*. A inoculação em ágar DNase (BBL[®] DNASE Test Agar) foi feita pela imersão de um suabe estéril no BHI e posterior estriamento em linha única na superfície do ágar e incubação *overnight* (NMC, 1999a). A leitura do teste com resultado positivo foi feita pela visualização de halo róseo ao redor das colônias.

3.6.2.7 Teste do Ágar Manitol

O cultivo de colônias de *Staphylococcus* spp. em Ágar Manitol (Difco[®]) foi feito para a caracterização bioquímica das cepas quanto à fermentação do carboidrato manitol, transferindo-se colônias isoladas, pelo método de semeadura estriada, para a superfície do Ágar Manitol (Difco[®]) em placas de Petri. As placas inoculadas foram incubadas por até 48 horas para a interpretação dos resultados como positivo, pela mudança da coloração do meio de salmão para o amarelo pela fermentação do carboidrato; negativo, pela mudança

da coloração do meio de salmão para o violáceo, e inalterado, sem qualquer mudança na coloração do meio (NMC, 1999a).

3.6.2.8 Identificação de Bacilos Gram Negativos

A identificação de Bacilos Gram Negativos (BGN) foi realizada no Laboratório de Biologia Animal, Setor de Bacteriologia, PESAGRO-RIO. Colônias isoladas inicialmente em Ágar EMB (Difco[®]) foram inoculadas em Caldo Nutriente, incubado a 37°C por 24 a 48 horas. Foram utilizados os meios seletivos Ágar EMB (Teague), Ágar Hektoen, Ágar Seletivo para *Pseudomonas-Aeromonas* (GSP), Ágar Cetrimida (*Pseudomonas* spp.) e Ágar contendo 5% de sangue de carneiro (AS), com incubação a 37°C por 24 a 48 horas.

As colônias de bactérias Gram negativas foram inoculadas em meio de triagem, Monteverde – CV (COSTA; VERNIN, 1955), seguido de incubação a 37°C por 24 horas para a identificação presuntiva. As espécies foram identificadas de acordo com as características bioquímicas conforme recomendado por Costa e Hofer (1972) e Edwards e Ewing (1972).

Foram realizados diferentes testes para a identificação dos isolados: Citrato (meio Citrato de Simmons); Oxidase (tira de papel Probac[®]); Fermentação/Oxidação (meio Hugh-Leifson, O-F); Triptofano Desaminase (TDA); Vermelho de Metila e Voges Proskauer (meio Clark Lubs VM-VP); Uréia; Nitrito; Indol e Motilidade em meio Sulfeto Indol Motilidade (SIM); produção de gás sulfídrico (H₂S), fermentação de glicose, sacarose e lactose, e produção de gás em Ágar *Triple Sugar Irion* (TSI).

Para a identificação das espécies de *Pseudomonas* spp. as cepas foram semeadas em placas de Agar Cetrimide e sob luz ultravioleta, classificadas como grupo fluorescente e grupo não fluorescente (COUTINHO, 2005).

3.6.3 Teste de susceptibilidade *in vitro* para *Staphylococcus* spp.

Das 74 cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas, somente 58 foram resgatadas e submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* pelo método de difusão em discos (BAUER et al., 1966), sendo 56 cepas coagulase negativa e duas cepas coagulase positiva.

Quatro a cinco colônias idênticas foram transferidas com alça de platina para tubos de ensaio contendo 5,0 mL de meio Mueller Hinton (Difco[®]), seguido de homogeneização em agitador de tubos por cinco segundos e incubação a 37°C por 18 a 24 horas. Cada cultura em suspensão foi comparada à turbidez padrão de 0,5 da escala de Mac Farland (solução a 1% de cloreto de bário e 99,5 mL de ácido sulfúrico a 1%, 0,36N), e em seguida um suabe estéril foi imerso na suspensão de bactérias, comprimido contra as paredes do tubo para retirar o excesso, esfregado sobre a superfície do ágar em pelo menos três sentidos na superfície total da placa com ágar Mueller Hinton (Merck[®]). Discos de papel de filtro impregnados com concentrações conhecidas de agentes antimicrobianos foram dispostos com uma pinça estéril sobre a superfície do ágar, com espaçamento de 24 mm entre os mesmos, e as placas incubadas a 37°C por até 24 horas.

Um total de 16 antimicrobianos (Identifar[®] e Sensifar[®]) foram testados: amoxicilina (10mcg), ampicilina (10mcg), cefalexina (30mcg), cefotaxima (30mcg), ciprofloxacina (5mcg), doxiciclina (30mcg), enrofloxacina (5mcg), eritromicina (15mcg), fosfomicina (200mcg), gentamicina (10mcg), norfloxacina (10mcg), novobiocina (5mcg), oxacilina (1mcg), penicilina (10 UI), sulfametoxazol / trimetoprim (25mcg) e tetraciclina (30mcg). A leitura foi realizada medindo-se o diâmetro, em milímetros, dos halos de inibição de crescimento das colônias bacterianas, e as cepas classificadas como: resistentes, intermediárias ou sensíveis.

3.7 ANÁLISE MOLECULAR

3.7.1 PCR para *Mycoplasma* spp. e *M. mycoides* cluster

A extração de DNA de cada amostra de leite foi realizada pelo método de fenol/clorofórmio, baseada em Sambrook et al. (1989). Após a extração, o DNA foi concentrado em álcool etílico (ZEUGIN; HARTLEY; 1985), centrifugado, e o sedimento ressuspenso em tampão Tris-EDTA pH 8,3 (SAMBROOK et al., 1989) e estocado a –20°C para uso na PCR.

A reação de amplificação do DNA (Quadro 2) foi realizada em termociclador PTC-100 (PELTIER-EFFECT CYCLING-MJ Research, Inc.) com a programação: 94°C por 5 minutos; 40 ciclos com desnaturação a 94°C por 1 minuto, pareamento a 55°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 2 minutos; 4°C por 5 minutos para o gênero *Mycoplasma*

(ALMEIDA et al., 2007), e para *M. mycoides cluster* 96°C por 3 minutos; 33 ciclos com desnaturação a 96°C por 30 segundos, pareamento a 60°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto; 72°C por 5 minutos e 4°C por 5 minutos, conforme Persson et al. (1999) com adaptações para o número de ciclos, temperatura e tempo. Cada tubo de reação continha: 59µL de água para PCR, 10µL de Tampão PCR 10X, 5µL de MgCl₂, 5µL de dNTPmix (0,25 Mm de cada), 2µL de cada *primer* (Prodimol Biotecnologia S/A) – para *Mycoplasma* spp. foram testados dois pares de *primers*: GPO-1 (5'- ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT A -3') e MGSO (5'- TGC ACC ATC TGT CAC TCT GTT AAC CTC - 3') para a reprodução de *amplicons* de 715pb; GPO-3 (5'- GGG AGC AAA CAG GAT TAG ATA CCC T -3') e MGSO para a reprodução de *amplicons* de 270pb (KUPPEVELD et al., 1992), e para *M. mycoides cluster*: F-REAP (5'-GAA ACG AAA GAT AAT ACC GCA TGT AG-3') e R-REAP (5'-CCA CTT GTG CGG GTC CCC GTC-3') para a reprodução de *amplicons* de 785pb (PERSSON et al., 1999; LeGRAND et al., 2004) (Quadro 3) ; 2µL de Taq Polimerase (1U/µL), 15µL de DNA extraído em TE, com um volume final de 100µL, sobrepostos por duas gotas de óleo mineral estéril.

Como controles positivos da PCR foram utilizadas as cepas ATCC de *Ma* GM139 e *Mmm*LC, e como controle negativo, água para PCR. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (SAMBROOK et al., 1989) e a visualização de *amplicons* feita em transiluminador. O gel foi fotografado para a comprovação dos resultados obtidos.

Quadro 2. Programas das PCR para *Mycoplasma* spp. e *M. mycoides cluster*.

PCR	Programa	Referência
<i>Mycoplasma</i> spp.	94°C / 5 min 40 ciclos: 94°C / 1 min 55°C / 1 min 72°C / 2 min 4°C / 5 min	Kuppeveld et al. (1992)
<i>M. mycoides cluster</i>	96°C / 3 min 33 ciclos: 96°C / 30 seg 60°C / 30 seg 72°C / 1 min 72°C / 5 min 4°C / 5 min	Persson et al. (1999); LeGrand et al. (2004) com adaptações

Quadro 3. *Primers* utilizados na PCR para *Mycoplasma* spp. e *M. mycoides cluster* com suas respectivas seqüências de nucleotídeos, tamanho do produto amplificado e referências.

Primer	Seqüência de nucleotídeos	Produto (pb)	Referência
GPO-1	5'- ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT A -3'		Kuppeveld et al.
MGSO	5'- TGC ACC ATC TGT CAC TCT GTT AAC CTC -3'	715	(1992)
GPO-3	5'- GGG AGC AAA CAG GAT TAG ATA CCC T -3'		Kuppeveld et al.
MGSO	5'- TGC ACC ATC TGT CAC TCT GTT AAC CTC -3'	270	(1992)
F-REAP	5'-GAA ACG AAA GAT AAT ACC GCA TGT AG-3'		Persson et al.
R-REAP	5'-CCA CTT GTG CGG GTC CCC GTC-3'	785	(1999); LeGrand et al. (2004)

3.8 ANÁLISE SOROLÓGICA PARA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAE)

As amostras de sangue foram dessoradas em temperatura ambiente e/ou centrifugadas (20.000Xg) por cinco minutos, quando necessário, para a obtenção final dos soros, os quais foram armazenados a -20°C até o momento de uso. Os soros foram submetidos ao teste de IDGA para a presença do CAEV pela utilização de kit comercial (Kit Biovetech[®], Recife, PE), a fim de detectar anticorpos antip28 em soros de cabras. A escolha do Kit de IDGA com antígeno preparado a partir do CAEV foi baseada no estudo de Abreu et al. (1998) que observaram maior sensibilidade comparada ao antígeno de Maedi-Visna.

3.8.1 IDGA para detecção de CAE

O frasco com agarose (pertencente ao kit) foi aquecido em microondas até total dissolução da mesma. Com a utilização de pipeta de 20 mL pré-aquecida, foram distribuídos 14 mL de agarose em placa de Petri de 90 mm de diâmetro, colocada em posição horizontal. Após a completa solidificação da agarose, a mesma foi perfurada com

um cortador de sete cavidades, de 4 mm de diâmetro e 3 mm de distância entre as bordas, sendo uma central e seis periféricas eqüidistantes.

Os reagentes (antígeno e soro controle positivo antiCAEV) foram levemente homogeneizados com movimentos circulares e distribuídos de acordo com a seqüência: nas seis cavidades periféricas, de maneira alternada, 20 μ L do soro teste e 20 μ L do controle positivo; e 20 μ L do antígeno (Ag) na cavidade central. Após a distribuição dos reagentes as placas de Petri foram incubadas em atmosfera úmida a aproximadamente 25°C, por até 72 horas e a leitura definitiva dos resultados foi feita após 72 horas de incubação, pela observação das placas sobre um fundo preto, com o auxílio de uma fonte luminosa.

As reações foram avaliadas pela presença de linhas de identidade com a linha de precipitação, obtida entre o Ag e o soro controle positivo, e o tipo de reação variou com a concentração da amostra testada. A linha formada com o controle positivo serviu de base para a leitura do teste, estabelecendo-se as possibilidades a seguir.

- Reação negativa: as linhas formadas entre o Ag e o soro controle positivo dirigem-se para a cavidade onde se encontram as amostras testadas;
- Reação positiva: as linhas formadas entre o Ag e o soro controle positivo fundem-se com aquelas formadas pelas amostras testadas e formam uma linha contínua de identidade total;
- Reação fraca positiva: a linha de precipitação tende a se formar mais próximo da cavidade onde se encontra a amostra que está sendo testada;
- Linhas inespecíficas: a reação inespecífica não forma uma linha contínua com as do controle. São formadas por outras reações entre Ag e anticorpo que não aquela específica para CAE.

3.9 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas de 119 amostras de leite de cabra foram realizadas no Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO / Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento / RJ. Os parâmetros físico-químicos foram determinados segundo os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para o Controle de Leite e Produtos Lácteos (BRASIL, 1981; 2003) e Instrução Normativa nº 37 de 31 de Outubro de 2000, Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra (BRASIL, 2000).

3.9.1 Determinação da Acidez Titulável

A acidez foi determinada conforme Brasil (1981) pela titulação de 10,0mL de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida (NaOH 0,1N), utilizando-se como indicador a fenolftaleína. O resultado foi expresso em graus Dornic (°D).

3.9.2 Determinação da Gordura

Para a determinação da gordura (g/100mL) foi utilizado o Método Butirométrico para Leite Fluido (BRASIL, 1981) que tem como princípio o ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial. A porcentagem de gordura foi lida diretamente no butirômetro de Gerber.

3.9.3 Determinação da Caseína

A dosificação da proteína precipitada em caseína foi realizada pelo Método do Formol ou Sorensen-Walker modificado (SANTOS, 1952).

3.9.4 Determinação de Cloretos

A determinação de cloretos foi realizada pelo Método Mercurométrico (BRASIL, 1981).

3.9.5 Determinação do Extrato Seco Total (EST)

O Extrato Seco Total (EST) foi determinado pelo Método do Disco de Ackerman por meio dos valores de densidade e do teor de gordura (BRASIL, 1981). O equipamento permite fazer coincidir as graduações dos círculos interno e médio, correspondentes à densidade corrigida e à porcentagem de gordura, e a posição da seta indica no círculo externo a porcentagem de EST. Para base de cálculos foi utilizada a fórmula prática a seguir.

Fórmula: $G/5 + D/4 G + 0,26$

Onde:

D = densidade

G = % gordura

3.9.6 Determinação do Extrato Seco Desengordurado (ESD)

A porcentagem de Extrato Seco Desengordurado (ESD) foi obtida subtraindo da porcentagem de EST a porcentagem de gordura da amostra (BRASIL, 1981).

3.9.7 Determinação do Índice Crioscópico

O índice crioscópico ou ponto de congelamento foi determinado em aparelho eletrônico Advanced Digmatic Milk Cryoscopic 4DII, conforme as instruções contidas no manual do aparelho, e os resultados foram expressos em escala de graus Hortvet (°H).

3.9.8 Determinação da Densidade

A densidade a 15°C foi determinada em aparelho eletrônico modelo “Density DMA 48 Density Meter AP PAAP”, conforme instruções do manual do aparelho.

3.9.9 Determinação da Lactose

A lactose foi determinada pelo Método Lane-Eynon (BRASIL, 2003), pela redução dos íons cúpricos a íons cuprosos pelo açúcar redutor em meio alcalino, a quente.

4 RESULTADOS

4.1 MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA A CAMPO

A prevalência de mastite clínica pelo teste da Caneca Telada foi de 3,1% (4/129). As prevalências de mastite subclínica pelo CMT e pelo exame bacteriológico foram de 5,4% (7/129) e 57,4% (74/129), respectivamente, conforme observado na tabela 7.

Tabela 7. Positividade nos exames da Caneca Telada, *California Mastitis Test* (CMT) e Bacteriológico, a partir de 129 amostras de leite de cabra *in natura*, de 11 propriedades, nos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Caneca Telada			CMT			Bacteriológico		
n	Positivo	%	n	Positivo	%	n	Positivo	%
129	4	3,1	129	7	5,4	129	74	57,4

n: número de amostras examinadas

%; porcentagem de amostras positivas

4.2 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

4.2.1 Cultivo, isolamento e identificação bacteriana

Os cultivos foram classificados como bacteriologicamente positivos pela presença de três ou mais colônias idênticas (DEINHOFER; PERNTHANER, 1995) (Figura 6), as quais foram identificadas como Gram positivas ou Gram negativas (Figuras 7 e 8).

Das 129 amostras de leite de cabra 57,4% (74/129) foram consideradas bacteriologicamente positivas e em 42,6% (55/129) não houve isolamento de agentes bacterianos (Figura 9).



Figura 6. Colônias de bactérias de coloração cinza em meio ágar sangue ovino a 5%.

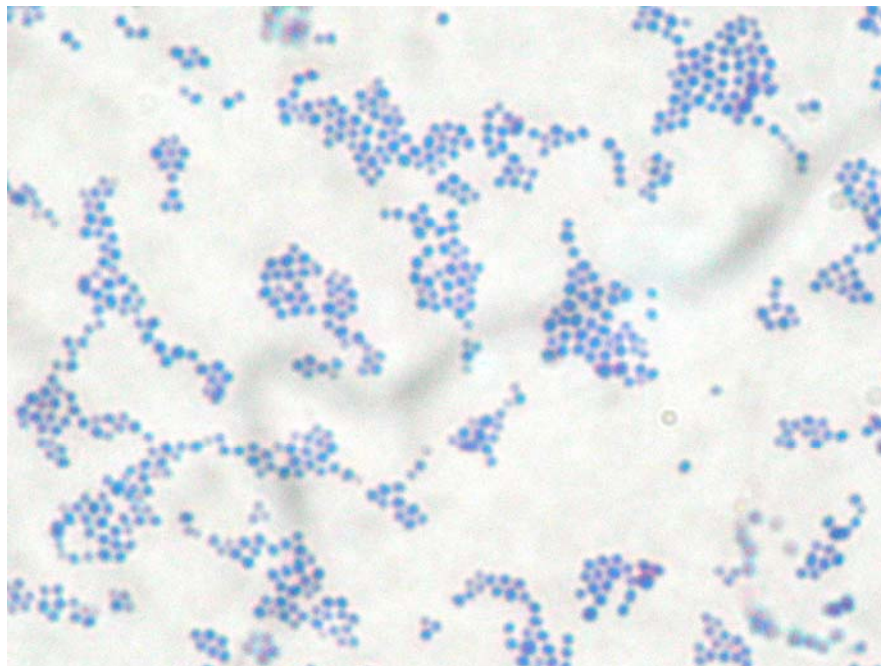


Figura 7. Cocos Gram positivos corados pelo método de Gram a partir do cultivo de amostra de leite de cabra.



Figura 8. Bacilos Gram negativos corados pelo método de Gram a partir do cultivo de amostra de leite de cabra.

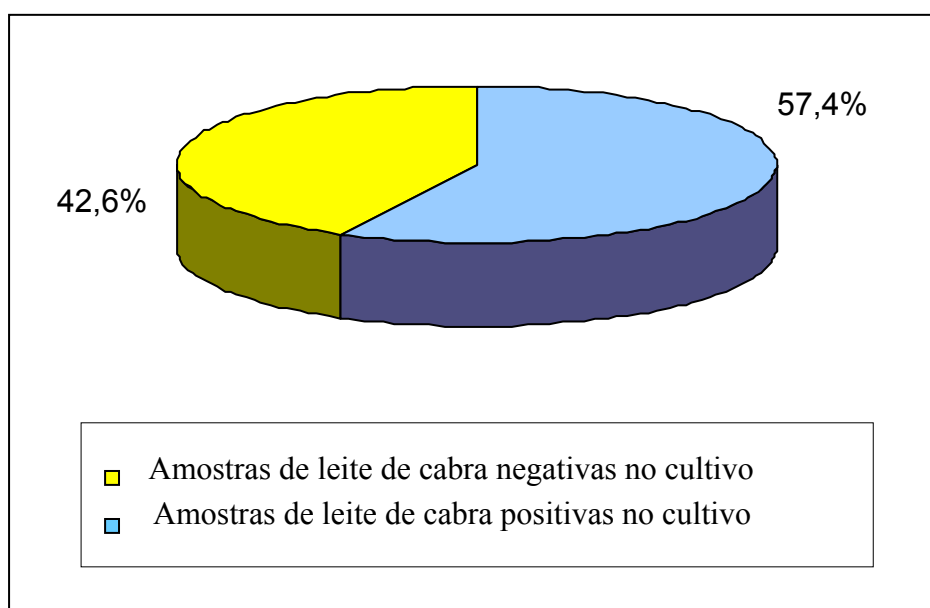


Figura 9. Frequência das amostras de leite de cabra positivas e negativas no cultivo.

Foram isoladas 101 cepas bacterianas a partir de 129 amostras de leite de cabra *in natura*, sendo mais frequente *Staphylococcus* spp. 73,3% (74/101), seguido de bastões Gram positivos 9,9% (10/101), *Streptococcus* spp. 5,9% (6/101), *Proteus vulgaris* 2,9% (3/101), *Pseudomonas* spp. 2,9% (3/101), *Escherichia coli* 1,9% (2/101), *Klebsiella* spp. 1,9% (2/101) e *Enterococcus* spp. 0,9% (1/101) (Figura 10). Não houve isolamento de *Mycoplasma* spp.

Das cepas de *Staphylococcus* spp. 97,3% (72/74) foram coagulase negativa, sendo 44,4% (32/72) hemolíticas e 55,6% (40/72) não hemolíticas, e 2,7% (2/74) foram cepas hemolíticas e coagulase positiva (Figura 11).

No teste da caneca telada em 50,0% (2/4) das amostras de leite provenientes de cabras com mastite clínica foram isoladas cepas de *Staphylococcus* coagulase negativa e em 50,0% (2/4) foi obtido resultado negativo no cultivo.

Não houve diferença estatística significativa pelo teste Qui-quadrado de Fisher ($p > 0,05$) entre o sistema de ordenha adotado e a positividade para o exame bacteriológico (Tabela 8).

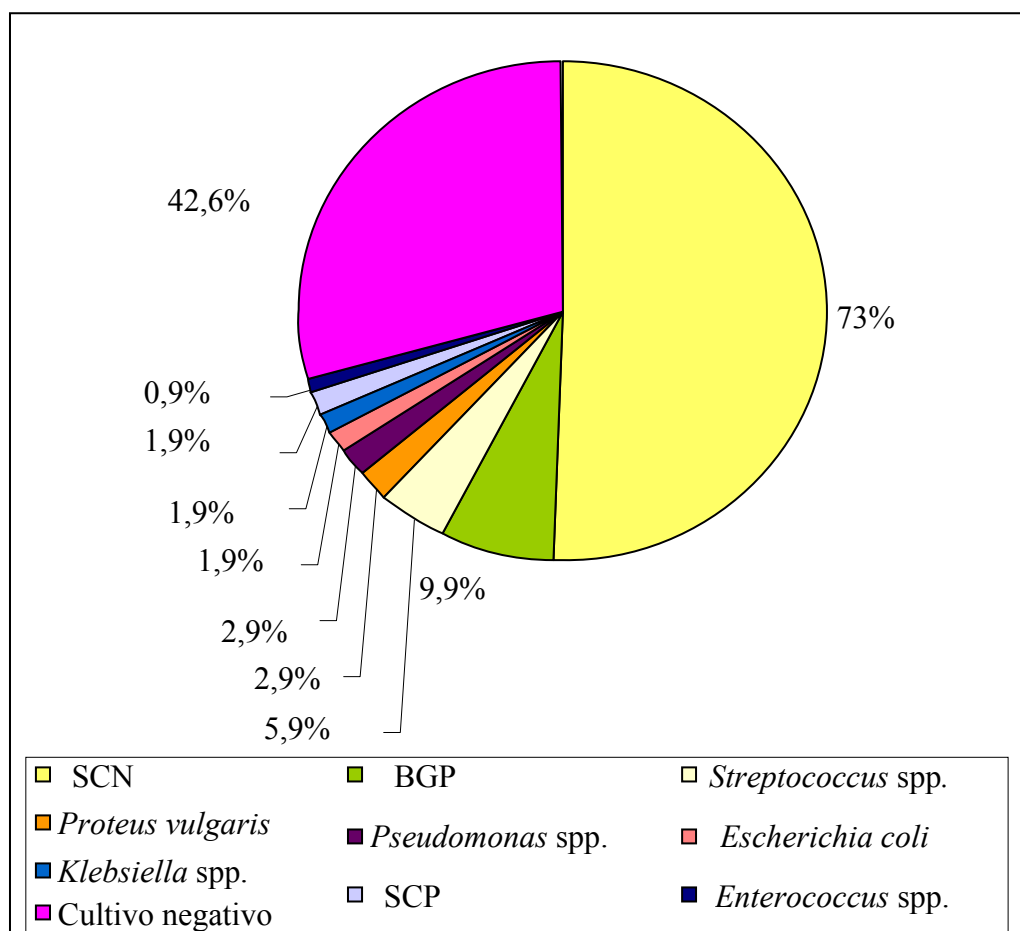


Figura 10. Frequência das 101 cepas bacterianas isoladas a partir de 129 amostras de leite de cabra *in natura*.

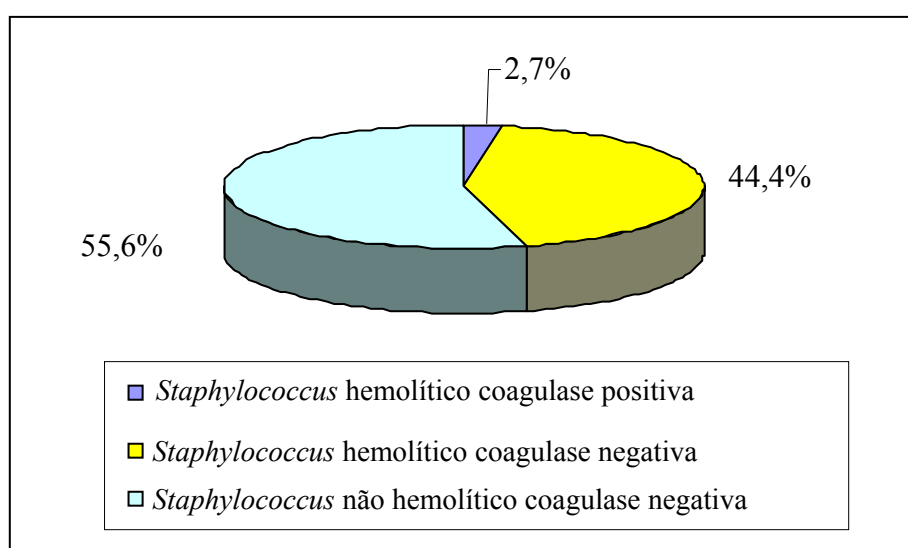


Figura 11. Frequência de *Staphylococcus* hemolíticos e não-hemolíticos, coagulase positiva e negativa, isolados em leite de cabras.

Tabela 8. Positividade no exame bacteriológico por sistema de ordenha em caprinos leiteiros de rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Sistema de ordenha	Bacteriológico		Total
	Positivo	Negativo	
Manual	40	29	69
Mecânico	34	26	60
Total	74	55	129

Qui-quadrado de Fisher ($p > 0,05$).

Para os escores $\geq 2+$ no CMT foram isolados diferentes patógenos bacterianos: *Staphylococcus* coagulase negativa, bacilos Gram positivos, *Proteus vulgaris* e *Pseudomonas* spp. Das sete amostras de leite com escores $\geq 2+$, uma não apresentou crescimento bacteriano (Tabela 9). Para as reações negativas, traços e 1+ no CMT, 52,7% (68/129) das amostras foram bacteriologicamente positivas (Tabela 10).

Pela análise da sensibilidade, especificidade e valores preditivos do CMT em relação ao exame bacteriológico (Tabela 10), foi observada uma sensibilidade baixa (8,1%) no CMT, o que elevou o valor preditivo positivo (85,7%) pela diminuição do número de falso-positivos. Desta forma, o resultado positivo no CMT foi constituído por animais verdadeiramente positivos, o que caracterizou a eficiência do teste quando considerados os escores 2+ e 3+ em relação ao cultivo positivo. Conseqüentemente, os resultados negativos no CMT, em sua maioria, 52,7% (68/129), foram falso-negativos.

O diagnóstico da mastite subclínica pelo CMT e pelo exame bacteriológico (Padrão Ouro) diferiu de forma significativa ($p < 0,05$) pela análise estatística de Qui-quadrado de McNemar (Tabela 10).

Tabela 9. Bactérias isoladas no leite de cabra *in natura* de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro em relação aos escores do *California Mastitis Test* (CMT).

Bactérias	Escores do CMT					Total
	Negativo	Traço	1+	2+	3+	
SCN	55	4	8	2	3	72
Bacilos Gram positivos	9	0	0	1	0	10
<i>Streptococcus</i> spp.	5	0	1	0	0	6
<i>Proteus vulgaris</i>	2	0	0	1	0	3
<i>Pseudomonas</i> spp.	2	0	0	1	0	3
<i>Escherichia coli</i>	1	0	0	1	0	2
<i>Klebsiella</i> spp.	2	0	0	0	0	2
SCP	1	1	0	0	0	2
<i>Enterococcus</i> spp.	1	0	0	0	0	1
Cultivo negativo	48	6	0	0	1	55
Total	126	11	9	6	4	156

SCN = *Staphylococcus* coagulase negativa

SCP = *Staphylococcus* coagulase positiva

Tabela 10. Sensibilidade, especificidade e valores preditivos do *California Mastitis Test* (CMT) em relação ao exame bacteriológico (Padrão Ouro) de 129 amostras de leite de cabra *in natura*, de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

	Bacteriológico	Bacteriológico	Total
	positivo	negativo	
CMT positivo	6 (4,7%)	1 (0,8%)	7 (5,0%)
CMT negativo	68 (52,7%)	54 (41,9%)	122 (95,0%)
Total	74 (57,4%)	55 (42,6%)	129 (100%)

Qui-quadrado de McNemar ($p < 0,05$)

4.2.2 Teste de susceptibilidade *in vitro* para *Staphylococcus* spp.

A resistência antimicrobiana obtida para as cepas de *Staphylococcus* coagulase negativa (Tabela 11) foi 55,4% (31/56) para ampicilina, 51,8% (29/56) para penicilina, 46,4% (26/56) para amoxicilina, 14,3% (8/56) para fosfomicina, 10,7% (6/56) para tetraciclina, 7,1% (4/56) para novobiocina, 5,4% (3/56) para doxiciclina, 3,6% (2/56) para oxacilina e eritromicina, 1,8% (1/56) para cefalexina, enrofloxacina, norfloxacina, sulfametoxazol/trimetoprim e ciprofloxacina e 0% (0/56) para gentamicina e cefotaxima. Das cepas isoladas em 10 dos 11 rebanhos estudados, a maior taxa de resistência antimicrobiana *in vitro* foi verificada para ampicilina, penicilina e amoxicilina.

Tabela 11. Susceptibilidade a antimicrobianos das 56 cepas *Staphylococcus* spp. coagulase negativa isoladas de 129 amostras de leite de cabra *in natura*, de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Antimicrobianos	Número de amostras (%)		
	Resistente	Intermediária	Sensível
Ampicilina	31 (55,4)	0 (0)	25 (44,6)
Penicilina	29 (51,8)	0 (0)	27 (48,2)
Amoxicilina	26 (46,4)	0 (0)	30 (53,6)
Fosfomicina	8 (14,3)	2 (3,6)	46 (82,1)
Tetraciclina	6 (10,7)	2 (3,6)	48 (85,7)
Novobiocina	4 (7,1)	11 (19,6)	41 (73,2)
Doxiciclina	3 (5,4)	2 (3,6)	51 (91,1)
Oxacilina	2 (3,6)	2 (3,6)	52 (92,9)
Eritromicina	2 (3,6)	14 (25,0)	40 (71,4)
Cefalexina	1 (1,8)	0 (0)	55 (98,2)
Enrofloxacina	1 (1,8)	1 (1,8)	54 (96,4)
Norfloxacina	1 (1,8)	0 (0)	55 (98,2)
Sulfametoxazol/Trimetoprim	1 (1,8)	5 (8,9)	50 (89,3)
Ciprofloxacina	1 (1,8)	0 (0)	55 (98,2)
Gentamicina	0 (0)	0 (0)	56 (100)
Cefotaxima	0 (0)	8 (14,3)	48 (85,7)

Das 56 cepas coagulase negativa, 42,9% (24/56) apresentaram resistência a pelo menos três antimicrobianos e 12,5% (7/56) foram 100% (56/56) sensíveis à gentamicina (Tabela 11). Das duas cepas coagulase positivas isoladas de propriedades distintas, uma apresentou resistência múltipla a seis antibióticos testados: ampicilina, penicilina, oxacilina, amoxicilina, fosfomicina e cefalexina, enquanto a outra cepa foi resistente à tetraciclina e amoxicilina.

4.3 ANÁLISE MOLECULAR

4.3.1 PCR para *Mycoplasma* spp. e *M. mycoides* cluster

As 129 amostras de leite de cabra foram negativas na PCR para *Mycoplasma* spp. com a utilização dos pares de *primers* GPO-1 e MGSO, GPO-3 e MGSO, e para *M. mycoides* cluster com o par de *primers* F-REAP e R-REAP. A cepa padrão de *Ma* GM139 gerou *amplicon* de 715pb com o par de *primers* GPO-1 e MGSO (Figura 12), e *amplicon* de 270pb com o par de *primers* MGSO e GPO-3 (Figura 13). A cepa de *M. mycoides* LC gerou *amplicon* de 785pb com o par de *primers* F-REAP e R-REAP (Figura 14).

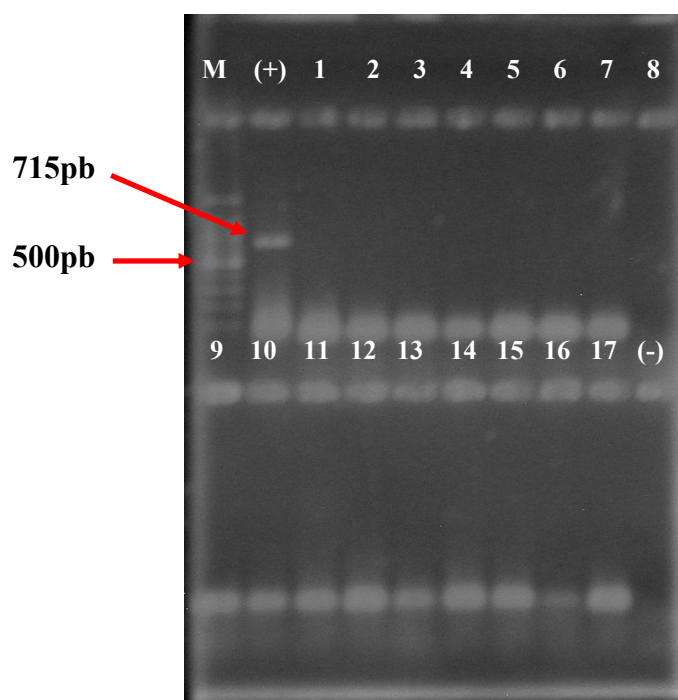


Figura 12. M: Ladder 100pb; (+): cepa de referência *M. agalactiae* GM139; 1 ao 17: DNA de amostras de leite de cabra; (-): controle negativo: água para PCR.

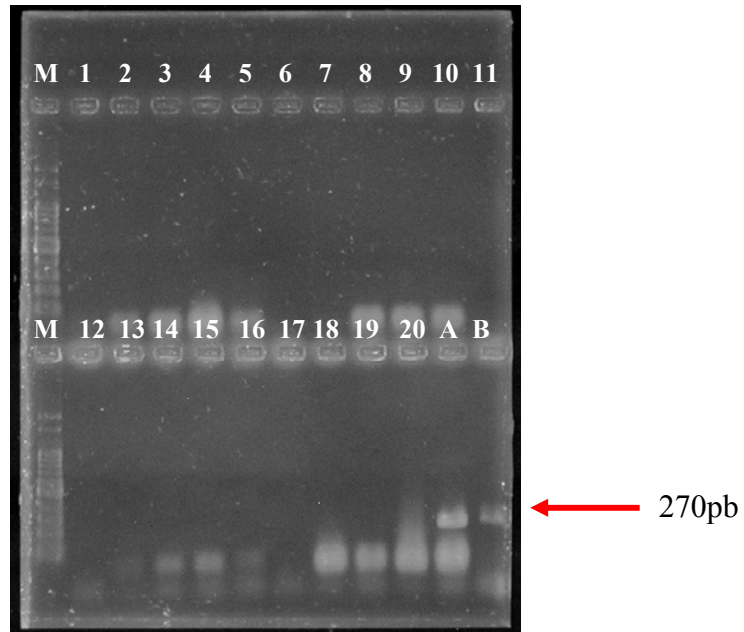


Figura 13. M: Ladder 100pb; 1 ao 20: DNA de amostras de leite de cabra; A: cepa de referência *M. agalactiae* GM139; B: cepa de referência *M. mycoides* LC.

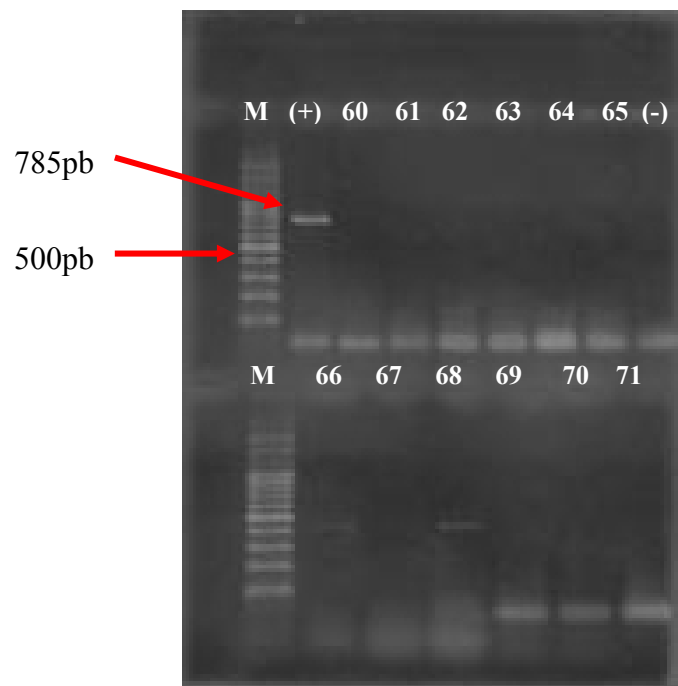


Figura 14. M: Ladder 100pb; (+): cepa de referência *M. mycoides* LC; 60 ao 71: DNA de amostras de leite; (-) controle negativo: água para PCR.

4.4 ANÁLISE SOROLÓGICA PARA DETECÇÃO DE CAE

Dos rebanhos estudados, 72,7% (8/11) apresentaram pelo menos um animal soropositivo (Figura 15), sendo de 24,0% (31/129) a prevalência encontrada para CAE. Não foram observados sintomas clínicos de mastite ou artrite nos animais soropositivos. No rebanho A, 28,6% (2/7) dos animais foram positivos para CAE, no C 100% (10/10), no D 70% (7/10), nos rebanhos F e J 30% (3/10), G e H 10% (1/10), e nos rebanhos B, E e K todos os caprinos foram soronegativos (Tabela 12).

Tabela 12. Positividade para CAE em 11 rebanhos caprinos leiteiros dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro pela Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA).

PROPRIEDADES	n	ANIMAIS POSITIVOS (%)
A	7	2 (28,6)
B	12	0 (0)
C	10	10 (100)
D	10	7 (70,0)
E	10	0 (0)
F	10	3 (30,0)
G	10	1 (10,0)
H	10	1 (10,0)
I	10	1 (10,0)
J	20	3 (30,0)
K	20	0 (0)
Total	129	31 (24,0)

n: número de cabras testados

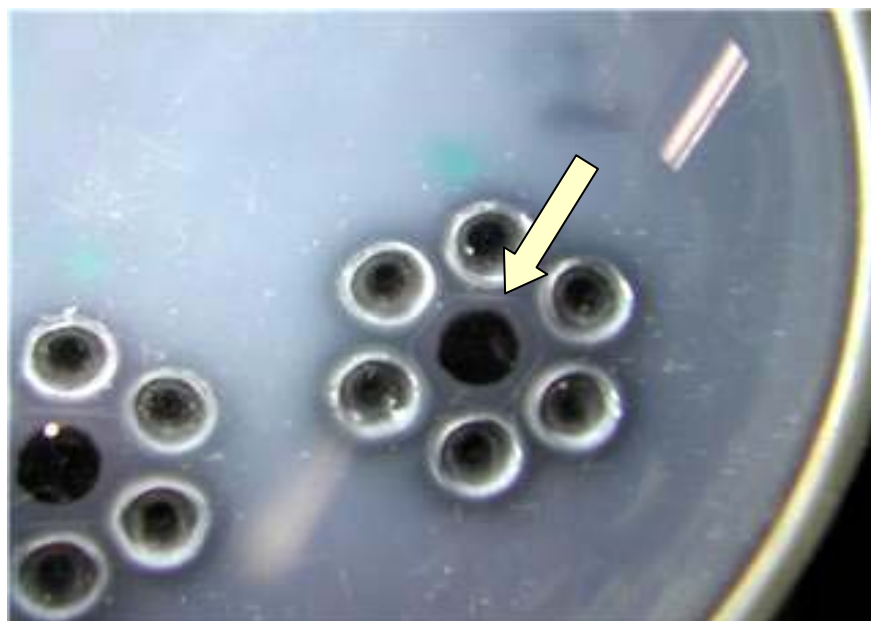


Figura 15. Linha de precipitação contínua assinalada por seta indicando soropositividade para CAE no teste de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA).

Houve diferença significativa pelo Qui-quadrado de Fisher ($p < 0,05$) entre o sistema de ordenha e a positividade para CAE (Tabela 13), sendo o risco (*odds ratio*) para CAE 4,7 vezes maior (intervalo de confiança: 1,922 a 11,687) para as cabras ordenhadas mecanicamente do que as ordenhadas manualmente.

Não houve diferença significativa pelo Qui-quadrado de Fisher ($p > 0,05$) entre o CMT e a positividade para CAE (Tabela 14).

Tabela 13. Positividade na IDGA para CAE por sistema de ordenha em caprinos leiteiros de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Sistema de ordenha	CAE positivo	CAE negativo	Total
Mecânico	23	37	60
Manual	8	61	69
Total	31	98	129

Qui-quadrado de Fisher ($p < 0,05$).

Tabela 14. Positividade na IDGA para CAE em relação ao CMT em caprinos leiteiros de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Animais	CMT positivo	CMT negativo	Total
CAE positivo	3	28	31
CAE negativo	4	94	98
Total	7	122	129

Qui-quadrado de Fisher ($p > 0,05$)

4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos do leite de cabra estão representados na tabela 15. Os parâmetros acidez, caseína, cloretos, densidade, ESD, EST, gordura, índice crioscópico e lactose diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os rebanhos caprinos leiteiros estudados pela ANOVA (Tabelas 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 e 24) e dentre os rebanhos pela análise de Tukey-Kramer (Tabela 25).

4.5.1 Acidez Titulável

O valor médio geral de acidez foi de $15,6^{\circ}\text{D}$ (Tabela 15). O padrão fixado pela legislação brasileira para o parâmetro acidez do leite de cabra é de 13°D a 18°D (BRASIL, 2000). Todos os rebanhos apresentaram valores dentro do estabelecido, exceto o rebanho K com um valor médio de $19,48^{\circ}\text{D}$. Os valores mínimo e máximo obtidos foram $9,75$ e $27,6^{\circ}\text{D}$, respectivamente (Tabela 16).

Das amostras analisadas $9,2\%$ (11/119) apresentaram acidez superior a 18°D , e destas $81,8\%$ (9/11) tinham pelo menos um agente bacteriano, $18,2\%$ (2/11) com a associação de pelo menos um agente bacteriano e cabras soropositivas para CAEV e $27,3\%$ (3/11) não apresentaram qualquer agente infeccioso (Figura 16). No entanto, não houve diferença estatística significativa pelo teste t-Student ($p > 0,05$) para o parâmetro acidez no leite em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26) ou para cabras infectadas por CAEV (Tabela 27).

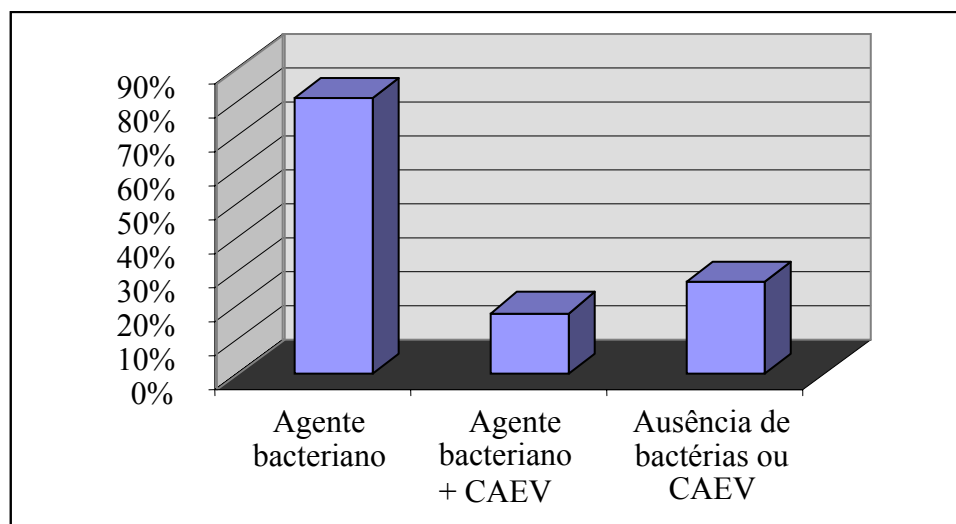


Figura 16. Frequência de amostras de leite de cabra *in natura* com o teor de acidez superior a 18°D em relação à presença ou ausência de agentes infecciosos.

4.5.2 Gordura

A média obtida para a gordura no leite de cabra *in natura* foi inferior a 2,9% em 63,6% (7/11) dos rebanhos, com teor médio geral de 2,6%. A gordura foi o componente com maior variação, com amplitude de 1,0 % a 6,7% (Tabela 17).

Neste estudo foi observado que 71,4% (85/119) das amostras de leite de cabra apresentaram teor de gordura inferior a 2,9% e destas, 56,5% (48/85) com a presença de pelo menos um tipo de patógeno bacteriano, 10,6% (9/85) cabras soropositivas para CAEV sem isolamento bacteriano, 12,9% (11/85) cabras com isolamento bacteriano e soropositivas para CAEV e 31,8% (27/85) sem a presença de agentes bacterianos ou CAEV (Figura 17).

Não houve diferença estatística significativa pelo teste t-Student ($p > 0,05$) para o parâmetro gordura no leite em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26) ou para cabras infectadas por CAEV (Tabela 27).

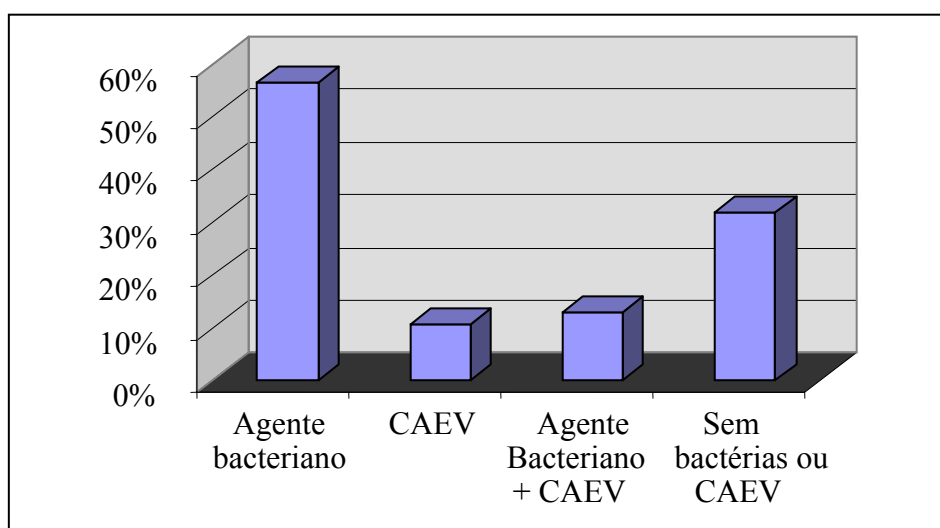


Figura 17. Frequência de amostras de leite de cabra *in natura* com o teor de gordura inferior a 2,9% em relação à presença ou ausência de agentes infecciosos.

4.5.3 Caseína

O valor médio geral referente à proteína em caseína no leite caprino foi de 2,44% (Tabela 15), e os valores mínimo e máximo foram de 1,78% e 3,47%, respectivamente (Tabela 18). Não houve diferença estatística significativa pelo teste t-Student ($p > 0,05$) para o parâmetro caseína no leite em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26) ou para cabras infectadas por CAEV (Tabela 27).

4.5.4 Cloretos

O valor médio geral obtido para cloretos no leite de cabra *in natura* foi de 0,25% (Tabela 15), com amplitude de 0,10% a 0,80% (Tabela 19).

Não houve diferença estatística significativa pelo teste t-Student ($p > 0,05$) para o teor de cloretos no leite em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26), no entanto foram obtidos valores significativamente menores ($p < 0,05$) para cabras infectadas por CAEV (Tabela 27).

4.5.5 Extrato Seco Total (EST)

Na análise do EST o valor médio foi de 10,82% (Tabela 15), com variação de 8,16 a 15,35% (Tabela 20). Não houve diferença estatística significativa pelo teste t-Student ($p>0,05$) para os valores de EST em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26) ou para cabras infectadas por CAEV (Tabela 27).

4.5.6 Extrato Seco Desengordurado (ESD)

Os rebanhos A, E, F, G e H não atingiram o mínimo de ESD (8,2%) exigido pela legislação (BRASIL, 2000), com os valores médios de 7,97%, 7,95%, 8,12%, 8,10% e 7,49%, respectivamente. O valor médio geral calculado para o ESD foi de 8,19% (Tabela 15), com variações de 6,29% a 9,31% (Tabela 21).

Não houve diferença estatística significativa pelo teste t-Student ($p>0,05$) para o ESD no leite em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26) ou para cabras infectadas por CAEV (Tabela 27).

4.5.7 Índice Crioscópico

A média geral do ponto de congelamento (índice crioscópico) determinado eletronicamente foi de $-0,571^{\circ}\text{H}$ (Tabela 15), com variação de $-0,545$ a $-0,613^{\circ}\text{H}$ (Tabela 22).

Não houve diferença estatística significativa pelo teste t-Student ($p>0,05$) para o índice crioscópico do leite em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26), no entanto, os valores para cabras infectadas por CAEV foram significativamente maiores ($p<0,05$) (Tabela 27).

4.5.8 Densidade

O valor médio observado para densidade a 15°C foi de 1029,7g/L (Tabela 15), com variação de 1025,7 a 1034,2g/L (Tabela 23). Não houve diferença estatística significativa

pelo teste t-Student ($p>0,05$) para a densidade do leite em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26) ou para cabras infectadas por CAEV (Tabela 27).

4.5.9 Lactose

Todos os rebanhos atenderam o limite (4,3%) estabelecido para lactose no leite caprino (BRASIL, 2000), exceto o rebanho A com o valor de 4,05%. O valor médio geral foi de 4,9% (Tabela 15), com variações de 3,53% a 5,86% (Tabela 24).

Neste estudo 9,24% (11/119) das amostras de leite apresentaram teor de lactose inferior a 4,3% e destas, 54,5% (6/11) com a presença de pelo menos um tipo de patógeno bacteriano, 18,2% (2/11) cabras infectadas por CAEV e sem isolamento bacteriano, 9,09% (1/11) cabras com isolamento bacteriano positivas para CAE e 27,3% (3/11) sem a presença de agentes bacterianos ou CAEV (Figura 18).

Pela análise estatística t-Student não houve diferença significativa ($p>0,05$) para os valores de lactose no leite em relação à positividade no exame bacteriológico (Tabela 26), no entanto, os valores obtidos para lactose foram significativamente menores ($p<0,05$) para cabras infectadas por CAEV (Tabela 27).

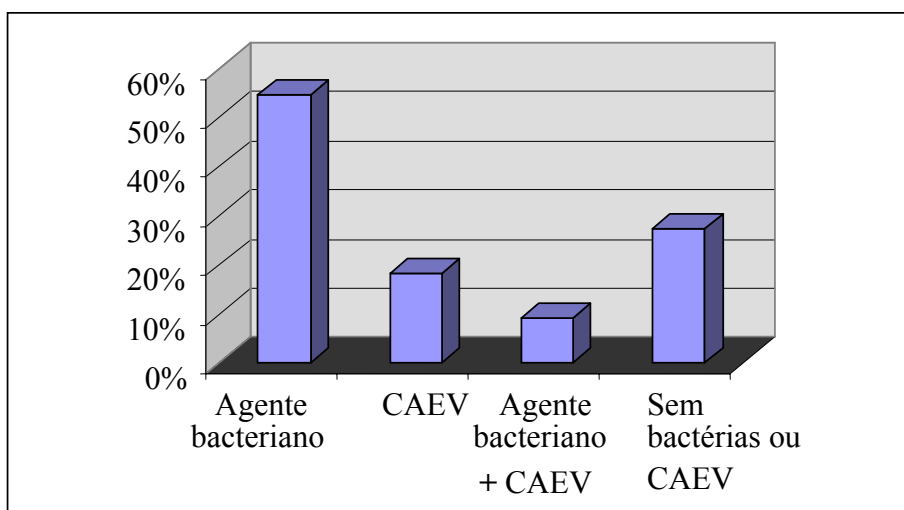


Figura 18. Frequência de amostras de leite de cabra *in natura* com o teor de lactose inferior a 4,3% em relação à presença ou ausência de agentes infecciosos.

Tabela 15 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos do leite de cabra por rebanho, em 11 propriedades dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Médias dos Parâmetros Físico-Químicos									
Rebanhos	Acidez	Caseína	G*	D**	IC	Cloreto	EST	ESD	Lactose
A	17,47	2,32	3,2	1028,3	-0,564	0,21	11,17	7,97	4,05
B	15,35	2,65	3,6	1030,4	-0,575	0,69	12,15	8,51	5,18
C	13	2,45	2,7	1029,6	-0,575	0,22	10,93	8,23	4,71
D	16,26	2,43	3,3	1030,3	-0,593	0,24	11,72	8,5	5,05
E	13,54	2,25	1,9	1030	-0,561	0,25	9,87	7,95	5,08
F	13,56	2,32	2,2	1029,6	-0,578	0,21	10,36	8,12	4,44
G	14,24	2,24	2,4	1029,4	-0,565	0,19	10,51	8,1	4,96
H	14,38	2,19	1,6	1027,6	-0,558	0,22	9,13	7,49	5,02
I	17,34	2,56	2,8	1030	-0,569	0,2	11,09	8,33	5,35
J	17,06	2,61	2,2	1030,2	-0,574	0,15	10,46	8,26	5,31
K	19,48	2,78	2,9	1031,3	***	0,12	11,68	8,69	4,85
Geral	15,61	2,44	2,62	1029,7	-0,571	0,25	10,82	8,19	4,91

*G: Gordura

**D: Densidade

IC: Índice Crioscópico (°H)

EST: Extrato Seco Total

ESD: Extrato Seco Desengordurado

***Análise não realizada

Tabela 16. Valores para acidez do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude			
		Mínimo – máximo	Desvio padrão	Mediana	Média
A	7	11,74 – 22,58	3,32	17,61	17,47
B	12	11,80 – 18,99	2,04	15,40	15,35
C	10	9,75 – 15,39	1,93	13,60	13,00
D	10	15,39 – 17,96	0,84	16,16	16,27
E	10	10,60 – 16,50	1,84	13,85	13,54
F	10	11,20 – 15,50	1,63	14,10	13,56
G	10	12,47 – 17,27	1,32	14,15	14,25
H	10	12,47 – 17,71	1,68	14,15	14,38
I	10	15,67 – 19,72	1,52	17,94	17,34
J	20	12,42 – 20,54	2,21	17,68	17,05
K	10	14,54 – 27,61	4,27	18,89	19,48

n: número de amostras.

Tabela 17. Valores para gordura do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude		Desvio padrão	Mediana	Média
		Mínimo – máximo				
A	7	2,70 – 3,60		0,30	3,20	3,20
B	12	1,80 – 6,70		1,46	3,80	3,62
C	10	1,80 – 3,7		0,70	2,65	2,70
D	10	2,50 – 4,10		0,57	3,45	3,32
E	10	1,10 – 2,50		0,44	2,00	1,92
F	10	1,30 – 2,80		0,48	2,35	2,24
G	10	1,90 – 3,00		0,41	2,30	2,41
H	10	1,00 – 3,50		0,74	1,45	1,64
I	10	2,40 – 3,20		0,26	2,75	2,76
J	20	1,30 – 2,80		0,48	2,15	2,20
K	10	2,30 – 3,80		0,46	3,00	2,98

n: número de amostras.

Tabela 18. Valores para caseína do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude		Desvio padrão	Mediana	Média
		Mínimo – máximo				
A	7	2,13 – 2,50		0,12	2,35	2,32
B	12	2,22 – 3,47		0,38	2,53	2,65
C	10	2,05 – 3,14		0,27	2,40	2,45
D	10	2,05 – 2,72		0,18	2,47	2,44
E	10	1,78 – 2,73		0,26	2,21	2,25
F	10	2,06 – 2,53		0,16	2,36	2,33
G	10	2,11 – 2,42		0,11	2,23	2,24
H	10	1,84 – 2,46		0,23	2,21	2,20
I	10	2,10 – 2,88		0,23	2,59	2,56
J	20	2,30 – 2,88		0,17	2,61	2,61
K	10	2,50 – 3,26		0,23	2,70	2,78

n: número de amostras.

Tabela 19. Valores para cloretos do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude		Desvio padrão	Mediana	Média
		Mínimo – máximo				
A	7	0,15 – 0,25		0,03	0,22	0,21
B	12	0,62 – 0,80		0,06	0,65	0,69
C	10	0,20 – 0,27		0,02	0,22	0,23
D	10	0,20 – 0,29		0,02	0,25	0,25
E	10	0,22 – 0,29		0,02	0,26	0,26
F	10	0,19 – 0,25		0,02	0,20	0,21
G	10	0,17 – 0,22		0,01	0,19	0,19
H	10	0,19 – 0,24		0,01	0,22	0,22
I	10	0,17 – 0,24		0,01	0,21	0,21
J	20	0,12 – 0,17		0,01	0,15	0,14
K	10	0,10 – 0,13		0,01	0,11	0,11

n: número de amostras.

Tabela 20. Valores para EST do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude		Desvio padrão	Mediana	Média
		Mínimo – máximo				
A	7	10,65 – 11,96		0,44	11,15	11,17
B	12	10,49 – 15,35		1,54	12,23	12,15
C	10	9,98 – 12,25		0,73	11,02	10,93
D	10	10,96 – 12,46		0,46	11,82	11,73
E	10	8,29 – 10,76		0,77	10,07	9,88
F	10	8,99 – 11,07		0,67	10,52	10,36
G	10	9,82 – 11,26		0,48	10,34	10,52
H	10	8,16 – 11,01		0,81	9,24	9,14
I	10	10,58 – 11,78		0,36	11,16	11,10
J	20	9,17 – 11,25		0,57	10,45	10,46
K	10	10,77 – 12,67		0,50	11,57	11,68

n: número de amostras.

Tabela 21. Valores para ESD do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude			
		Mínimo – máximo	Desvio padrão	Mediana	Média
A	7	7,78 – 8,56	0,26	7,88	7,94
B	12	7,74 – 9,04	0,35	8,59	8,51
C	10	7,98 – 8,55	0,18	8,26	8,23
D	10	8,25 – 8,96	0,21	8,46	8,51
E	10	6,29 – 8,76	0,69	7,96	7,87
F	10	7,62 – 8,77	0,37	8,08	8,12
G	10	7,75 – 8,39	0,21	8,11	8,10
H	10	7,06 – 7,87	0,29	7,53	7,50
I	10	7,88 – 8,60	0,23	8,38	8,34
J	20	7,48 – 8,88	0,38	8,29	8,26
K	10	8,44 – 9,31	0,27	8,55	8,70

n: número de amostras.

Tabela 22. Valores para índice crioscópico do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude			
		Mínimo – máximo	Desvio padrão	Mediana	Média
A	7	-0,574 - -0,557	0,006	-0,566	-0,564
B	12	-0,588 - -0,565	0,007	-0,575	-0,575
C	10	-0,584 - -0,565	0,006	-0,577	-0,575
D	10	-0,613 - -0,579	0,010	-0,592	-0,593
E	10	-0,568 - -0,553	0,005	-0,558	-0,560
F	10	-0,591 - -0,564	0,008	-0,576	-0,578
G	10	-0,575 - -0,556	0,005	-0,564	-0,565
H	10	-0,564 - -0,545	0,005	-0,558	-0,558
I	10	-0,584 - -0,553	0,011	-0,571	-0,569
J	20	-0,588 - -0,561	0,006	-0,574	-0,574
K	10	ND	ND	ND	ND

n: número de amostras; ND: não determinado.

Tabela 23. Valores para densidade do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude			
		Mínimo – máximo	Desvio padrão	Mediana	Média
A	7	1027,6 – 1030,5	1,03	1028,0	1028,3
B	12	1027,6 – 1032,9	1,74	1030,5	1030,2
C	10	1028,4 – 1030,8	0,90	1029,8	1029,7
D	10	1029,1 – 1031,7	0,93	1030,2	1030,3
E	10	1027,6 – 1032,4	1,36	1030,2	1030,1
F	10	1028,0 – 1032,2	1,44	1029,2	1029,7
G	10	1028,1 – 1031,0	0,87	1029,6	1029,4
H	10	1025,7 – 1029,3	1,31	1027,6	1027,6
I	10	1028,3 – 1031,1	1,03	1030,3	1030,0
J	20	1026,7 – 1033,1	1,65	1030,3	1030,2
K	10	1030,3 – 1034,2	1,28	1030,9	1031,3

n: número de amostras.

Tabela 24. Valores para lactose do leite caprino em 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanho	n	Amplitude			
		Mínimo – máximo	Desvio padrão	Mediana	Média
A	7	3,53 – 4,59	0,38	4,00	4,04
B	12	4,79 – 5,51	0,25	5,25	5,17
C	10	4,41 – 5,01	0,19	4,69	4,42
D	10	4,59 – 5,37	0,27	5,18	5,06
E	10	4,65 – 5,51	0,29	5,09	5,08
F	10	4,08 – 4,79	0,25	4,50	4,45
G	10	4,59 – 5,37	0,24	4,95	4,96
H	10	4,48 – 5,40	0,25	5,02	5,02
I	10	4,83 – 5,86	0,33	5,48	5,36
J	20	5,03 – 5,82	0,22	5,38	5,36
K	10	4,14 – 5,25	0,40	4,99	4,84

n: número de amostras.

Tabela 25. Diferenças estatísticas dos parâmetros físico-químicos de leite caprino entre as 11 propriedades, dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Rebanhos	Cloretos	Lactose	Crioscopia	EST	Acidez	Gordura	ESD	Caseína	Densidade
A x B	***	***							
A x C		***			***				
A x D		***	***						
A x E	***	***		***	***	***			
A x F			***		***				
A x G		***							
A x H		***		***		***			
A x I		***							
A x J	***	***				***			***
A x K	***						***	***	***
B x C	***	***							
B x D	***		***						
B x E	***		***	***		***	***	***	
B x F	***	***		***		***			
B x G	***		***	***		***		***	
B x H	***		***	***		***	***	***	***
B x I	***								
B x J	***			***		***			
B x K	***				***				
C x D			***		***				
C x E			***						
C x H			***			***	***		***
C x I		***			***				
C x J	***	***			***				
C x K	***				***				
D x E			***			***	***		
D x F		***	***			***			
D x G	***		***						
D x H			***			***	***		***
D x I			***						
D x J	***		***			***			
D x K	***							***	
E x F	***	***	***						
E x G	***								
E x H									***
E x I	***			***	***				
E x J	***		***		***			***	
E x K	***			***	***	***	***	***	
F x G		***	***						
F x H		***	***	***			***		***
F x I		***			***				
F x J	***	***			***				
F x K	***			***	***		***	***	
G x H									
G x H				***			***		
G x J	***	***						***	
G x K	***			***	***		***	***	
H x I			***	***		***	***	***	***
H x J	***		***	***			***	***	***
H x K	***			***	***	***	***	***	***
I x J	***								
I x K	***	***							
J x K		***		***					

***Diferença estatística significativa pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,05$)

Tabela 26. Média, desvio padrão ($X \pm DP$) e amplitude de parâmetros físico-químicos em 119 amostras de leite de cabra *in natura* distribuídos segundo a positividade para o exame bacteriológico, de 11 rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

PARÂMETROS	EXAME BACTERIOLÓGICO	
	Negativo (n=49)	Positivo (n=70)
Acidez	15,45 ± 2,47 ^a (10,78 – 20,54)	15,83 ± 3,10 ^a (9,75 – 27,61)
Caseína	2,44 ± 0,23 ^a (1,78 – 2,84)	2,46 ± 0,31 ^a (1,84 – 3,47)
Cloretos	0,23 ± 0,13 ^a (0,11 – 0,73)	0,25 ± 0,17 ^a (0,10 – 0,80)
EST	10,88 ± 1,13 ^a (8,16 – 15,35)	10,76 ± 1,07 ^a (8,29 – 13,94)
ESD	8,25 ± 0,38 ^a (7,06 – 8,96)	8,19 ± 0,49 ^a (6,29 – 9,31)
Crioscopia	-0,572 ± 0,01 ^a (0,595 – 0,553)	-0,571 ± 0,01 ^a (0,613 – 0,545)
Densidade	1029,8 ± 1,45 ^a (1026,3 – 1032,4)	1029,78 ± 1,62 ^a (1025,7 – 1034,2)
Lactose	4,94 ± 0,46 ^a (3,67 – 5,86)	4,99 ± 0,42 ^a (3,53 – 5,79)

a – letras iguais, na mesma linha, significa que não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) – Teste t-Student

Tabela 27. Média, desvio padrão ($X \pm DP$) e amplitude de parâmetros físico-químicos em 119 amostras de leite de cabra *in natura* distribuídos segundo a positividade para CAE.

PARÂMETROS	CABRAS	
	Negativas para CAE (n=88)	Positivas para CAE (n=31)
Acidez	15,88 ± 3,00 ^a (10,60 – 27,61)	15,10 ± 2,34 ^a (9,75 – 20,06)
Caseína	2,47 ± 0,30 ^a (1,78 – 3,47)	2,42 ± 0,22 ^a (2,05 – 3,14)
Cloretos	0,26 ± 0,17 ^a (0,10 – 0,80)	0,21 ± 0,04 ^b (0,12 – 0,29)
EST	10,80 ± 1,18 ^a (8,16 – 15,35)	10,83 ± 0,84 ^a (8,99 – 12,25)
ESD	8,21 ± 0,48 ^a (6,29 – 9,31)	8,22 ± 0,34 ^a (7,5 – 8,96)
Crioscopia	-0,570 ± 0,01 ^a (-0,613 - -0,545)	-0,575 ± 0,01 ^b (-0,595 - -0,553)
Densidade	1029,8 ± 1,61 ^a (1025,7 – 1034,2)	1029,67 ± 1,37 ^a (1027,2 – 1033,0)
Lactose	5,01 ± 0,45 ^a (3,53 – 5,86)	4,84 ± 0,38 ^b (3,88 – 5,62)

a, b – letras diferentes, na mesma linha, significa diferença estatística significativa ($p < 0,05$) – Teste t-Student

5 DISCUSSÃO

Dentre as cepas bacterianas isoladas a maior frequência foi obtida para *Staphylococcus* spp. como observado por Manser (1986), Contreras et al. (1995), Deinhofer e Pernthaner (1995), Contreras et al. (1999), White e Hinckley (1999) e Bezerra et al. (2006), enquanto as baixas frequências para *Streptococcus* spp., *E. coli* e *Pseudomonas* spp. foram semelhantes aos achados de Vianni e Fontana (1999) e White e Hinckley (1999).

A predominância de *Staphylococcus* não-hemolíticos em amostras de leite de cabra *in natura* também foi relatada por White e Hinckley (1999) e conforme Manser (1986) e Bezerra et al. (2006), *Staphylococcus* coagulase negativa representam o principal grupo de bactérias isoladas na mastite subclínica.

Não houve isolamento de *Mycoplasma* spp., assim como observado por Deinhofer e Pernthaner (1995) em amostras de leite de cabra. Entretanto, a detecção de micoplasmas foi relatada por diferentes autores, como DaMassa (1983), DaMassa et al. (1987), Egwu et al. (2001), De La Fe et al. (2005), Al-Momani et al. (2006) e Azevedo et al. (2006), em casos de mastite clínica. Assim como Contreras et al. (1995) e Egwu et al. (2001) verificaram a presença de micoplasmas a partir de amostras de leite de cabras com mastite subclínica.

Não se sabe se a ausência de *Mycoplasma* spp. e/ou a dificuldade de isolamento do mesmo seja devido à presença de outras bactérias no leite, que por si só ou por seus metabólitos tenham inibido o crescimento desse microrganismo, ou se realmente seja um diagnóstico negativo para *Mycoplasma* spp. Tola et al. (1997) verificaram que uma alta porcentagem de flora bacteriana impede o crescimento de *Mycoplasma* spp. em placas contendo ágar seletivo, o que dificulta a identificação de colônias do microrganismo.

No teste da Caneca Telada, o resultado negativo obtido a partir do exame bacteriológico em 50% (2/4) das amostras de leite provenientes de cabras com mastite clínica, pode ser devido à utilização de antimicrobianos no tratamento da mastite a campo, representando risco para a saúde pública pela presença de resíduos de antibiótico no leite (COSTA, 1996) caso não seja respeitado o afastamento dos animais em tratamento da produção.

Maisi e Riipinen (1988) observaram aumento no CMT relacionado à presença de *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. em amostras de leite de cabra, semelhante ao obtido neste estudo para *Staphylococcus* spp. e outros patógenos bacterianos, no entanto, foram obtidos escores negativos para as cepas de *Streptococcus* spp.

A ausência de crescimento bacteriano em uma amostra de leite com escore $\geq 2+$ no CMT pode estar relacionada à presença de outro agente infeccioso conforme observado por Silva et al. (2001) na avaliação de CCS para amostras de leite negativas no exame bacteriológico, assim como a soropositividade na referida cabra para CAE neste estudo.

A eficiência do CMT para os escores 2+ e 3+ em relação ao cultivo positivo observada neste estudo corrobora com os achados de Santos et al. (1995). Os resultados negativos no CMT representados por elevado número de falso-negativos denota a pouca confiabilidade do teste e implica no re-teste de amostras com resultados negativos. A diferença significativa entre os testes CMT e bacteriológico, implica na necessidade de associação de ambos para o diagnóstico de mastite subclínica em amostras de leite caprino, conforme preconizado por Silva et al. (2001), Bezerra et al. (2006) e Chapaval (2008). Conforme também observado por Birgel Júnior et al. (2007), no presente estudo não houve diferença significativa entre o CMT e a positividade para CAE.

A maior taxa de resistência antimicrobiana, *in vitro*, encontrada para a ampicilina e a penicilina corrobora com os achados de Lima Júnior et al. (1993), Rapini et al. (2003) e Bochev e Russenova (2005), e a sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de 100% à gentamicina, também foi observada anteriormente por Lima Júnior et al. (1993) e Bochev e Russenova (2005). Os antimicrobianos gentamicina e cefotaxima apresentaram a maior sensibilidade, *in vitro*, em todos os rebanhos deste estudo, o que pode ser decorrente da pouca utilização desses específicos antimicrobianos a campo, não favorecendo o desenvolvimento de resistência bacteriana.

Por outro lado, as elevadas taxas de resistência para os antimicrobianos ampicilina, penicilina e amoxicilina pressupõem o uso indiscriminado dos mesmos na terapêutica de caprinos leiteiros e reforça a importância da realização de testes de sensibilidade *in vitro*

para a adoção de medidas terapêuticas e profiláticas corretas, a fim de evitar a resistência microbiana e a presença de resíduos no leite, com risco à saúde do consumidor, além da inviabilidade de derivados lácteos de qualidade pela inibição de culturas lácteas sensíveis (BRITO; LANGE, 2005).

Conforme descrito por Kuppeveld et al. (1992) a utilização dos pares de *primers* GPO-1 e MGSO, GPO-3 e MGSO gerou *amplicons* de 715pb e de 270pb, respectivamente, para a cepa de referência *Ma* GM139. Com o par de *primers* F-REAP e R-REAP obteve-se *amplicon* de 785pb para a cepa de referência *Mmm*LC, semelhante aos estudos de Persson et al (1999) e LeGrand et al. (2004). No entanto, as 129 amostras de leite de cabra foram negativas na PCR para *Mycoplasma* spp. com a utilização dos pares de *primers* GPO-1 e MGSO, GPO-3 e MGSO, e para *M. mycoides cluster* com o par de *primers* F-REAP e R-REAP.

Pela utilização da IDGA para CAE não foi observada soropositividade em 75,9% (98/129) dos caprinos, no entanto, durante a fase precoce da infecção muitos animais podem permanecer soronegativos por períodos bastante variados. Para a identificação de animais com sorologia negativa ou dúbia a PCR seria uma alternativa (RIMSTAD et al., 1993 citado por CALLADO et al., 2001).

A diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre o sistema de ordenha e a positividade para CAE, com o risco (*odds ratio*) para CAE 4,7 vezes maior para as cabras ordenhadas mecanicamente, pode ser explicado neste estudo por possíveis erros no manejo ou desinfecção inadequada dos copos das ordenhadeiras mecânicas, que uma vez utilizados em cabras com leite contaminado pelo CAEV e em seguida ajustados em outras tetas, sem a correta desinfecção, serviriam como fonte de infecção (FRANKE, 1998; CALLADO et al., 2001; OIE, 2007).

Pelas análises físico-químicas realizadas em amostras de leite de cabra *in natura* foram observadas variações que estão em acordo ou não com os resultados de diferentes estudos. O valor médio geral de 15,6°D, obtido neste estudo para o parâmetro acidez, foi próximo aos valores reportados por Prata et al. (1998), Pereira et al. (2005) e Queiroga et al. (2007), de 16,1; 16,0 e 15,2°D, respectivamente. Os valores mínimo e máximo obtidos para acidez, 9,8 e 27,6°D, respectivamente, diferem dos valores descritos por Prata et al. (1998), de 14,0 e 17,9°D.

Neste estudo a gordura foi o componente do leite de cabra que demonstrou maior amplitude, 1,0 % a 6,7%, o que também foi observado por Prata et al. (1998), com variações de 1,7 a 5,7%. O teor médio geral de 2,6% foi inferior aos valores médios de

3,5% (BARROS; LEITÃO, 1992; PEREIRA et al., 2005), 3,7% (PRATA et al., 1998; ANDRADE et al., 2008), 4,6 a 5,5% (QUEIROGA et al., 1998), 4,1% (GOMES et al., 2004), 4,4% (PEREIRA et al., 2006), 3,4% (FONSECA et al., 2006; QUEIROGA et al., 2007) e 4,9% (BIRGEL JÚNIOR et al., 2007).

A composição básica do leite caprino é descrita por Ribeiro (1997) com 3,8% de gordura. Entretanto, oscilações no teor de gordura podem ser provocadas por fatores como o turno de ordenha, a raça, o período de lactação, o tipo de alimento fornecido e a sazonalidade (QUEIROGA et al., 2007). Segundo Brito e Brito (1998) as infecções intramamárias podem reduzir em até 10% a concentração total da gordura do leite e afetar a quantidade e a composição da membrana dos glóbulos de gordura, o que ocasiona alterações físicas no creme, na textura e aumenta o tempo necessário para a produção de manteiga. Pode haver aumento na quantidade de ácidos graxos livres, com a inibição das culturas lácteas usadas nos produtos fermentados e a alteração do sabor.

Birgel Júnior et al. (2007) obtiveram valores significativamente menores para os teores de gordura no leite de cabras infectadas por CAEV, o que difere dos achados deste estudo uma vez que não houve diferença significativa para o parâmetro gordura no leite em relação à positividade para CAE.

O valor médio geral de 2,44% referente à proteína em caseína corrobora com os achados de 2,52% (BARROS; LEITÃO, 1992) e de 2,43% (PRATA et al., 1998), e o valor médio geral de 0,25% para cloretos foi superior aos valores de 0,20% (BARROS; LEITÃO, 1992), 0,17% (PRATA et al., 1998) e 0,20% (TONIN; NADER FILHO, 2002).

A variação observada para o teor de cloretos, 0,10% a 0,80%, diferiu dos valores obtidos por Prata et al. (1998), de 0,11 a 0,20%. Birgel Júnior et al. (2007) relataram valores significativamente maiores para o teor de cloretos no leite de cabras infectadas pelo CAEV, no entanto, neste estudo, a soropositividade para CAE reduziu os valores de cloretos.

O valor médio de EST de 10,82% foi aproximado ao de Vilanova et al. (2008) de 10,26%, e inferior aos valores registrados por Barros e Leitão (1992), Prata et al. (1998); Queiroga et al. (1998), Gomes et al. (2004), Pereira et al. (2005), Pereira et al. (2006), Queiroga et al. (2007) e Andrade et al. (2008), de 12,1; 12,5; 12,8; 12,7; 11,8; 12,5; 11,4 e 12,3%, respectivamente. A variação observada para EST (8,2 a 15,4%) foi maior que a observada por Prata et al. (1998) de 10,6 a 15,3%.

Neste estudo não houve diferença significativa para os valores de EST em relação à positividade para cabras infectadas por CAEV, o que difere dos achados de Birgel Júnior et al. (2007) que obtiveram valores para EST significativamente menores.

O valor médio geral de 8,2% para o ESD aproxima-se dos valores de 8,6% (BARROS; LEITÃO, 1992), 8,9% (PRATA et al., 1998) e 8,4% (PEREIRA et al., 2005) e foi superior ao valor de 7,9% encontrado por Queiroga et al. (2007). As variações observadas para ESD (6,3% a 9,3%) diferiram das obtidas por Prata et al. (1998), de 8,2% a 10,1%.

A média geral do ponto de congelamento ($-0,571^{\circ}\text{H}$) no leite caprino foi semelhante à média obtida por Prata et al. (1998) de $-0,574^{\circ}\text{H}$, e diferiu do valor médio obtido por Barros e Leitão (1992) de $-0,620^{\circ}\text{H}$. A variação observada nos rebanhos ($-0,545$ a $-0,613^{\circ}\text{H}$) foi maior do que a obtida por Prata et al. (1998), de $-0,555$ a $-0,592^{\circ}\text{H}$. Foi verificado aumento significativo no índice crioscópico de cabras soropositivas para CAE.

O valor médio observado para densidade a 15°C (1029,7g/L) foi inferior aos valores de 1032,4; 1030,2 e 1031,7g/L obtidos por Prata et al. (1998), Pereira et al. (2005) e Queiroga et al. (2007), respectivamente. A amplitude (1025,7 a 1034,2g/L) diferiu da relatada por Prata et al. (1998), que obtiveram variações de 1028,2 a 1035,5g/L.

O valor médio geral de 4,9% para o parâmetro lactose, foi superior aos registrados por Prata et al. (1998), Queiroga et al. (1998), Gomes et al. (2004), Pereira et al. (2006), Birgel Júnior et al. (2007), Queiroga et al. (2007) e Vilanova et al. (2008), de 4,3%, 4,4%, 4,1%, 4,3%, 4,5%, 4,1% e 3,9%, respectivamente. A variação obtida, 3,5% a 5,9%, foi semelhante à observada por Prata et al. (1998), de 3,5 a 5,2%.

Os valores para lactose foram significativamente menores em cabras soropositivas para CAE, o que corrobora com os achados de Birgel Júnior et al. (2007), enquanto Turin et al. (2005) não observaram diferença significativa nas concentrações de lactose de cabras soronegativas e soropositivas.

A presença de CAE em rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro implica na necessidade de aquisição de animais com atestado negativo e eliminação de animais soropositivos para a contenção dessa enfermidade.

6 CONCLUSÕES

No CMT para a detecção de mastite subclínica deve-se considerar positivas as reações 2+ (positiva) e 3+ (fortemente positiva), pois coincidem com os resultados bacteriológicos positivos nas amostras de leite, enquanto que as amostras com resultados negativos devem ser confirmadas por exame bacteriológico.

O exame bacteriológico do leite foi o melhor teste para a detecção de mastite subclínica e não foi influenciado pelo tipo de ordenha.

Staphylococcus coagulase negativa foi o patógeno de maior frequência de isolamento em leite de cabra *in natura*, com maior sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos gentamicina e cefotaxima, e maior resistência à ampicilina, penicilina e amoxicilina.

Mycoplasma spp. não foi um agente microbiano prevalente em mastites nos rebanhos estudados.

A ordenha mecânica influenciou a soropositividade para CAE nos rebanhos estudados.

A soropositividade para CAE e parâmetros físico-químicos fora dos padrões fixados pela legislação em vigor influenciaram negativamente a qualidade do leite.

7 OBRAS CITADAS

ABREU, S. R. O.; CASTRO, R. S.; NASCIMENTO, S. A.; SOUZA, M. G. Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o do vírus Maedi-Visna para utilização em teste de imunodifusão em ágar gel. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.18, n.2, p.57-60, 1998.

ALMEIDA, M.G.A.R.; ANUNCIACÃO, A. V. M.; FIGUEREDO, A.; MARTINEZ, T. C. N.; LABORDA, S. S. 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.

ALMEIDA, J. F.; NASCIMENTO, E. R.; BARRETO, M. L.; PEREIRA, V. L. A.; LIGNON, G. B.; NASCIMENTO, M. G. F. PCR para a detecção de *Mycoplasma* spp. e *M. agalactiae* em leite de cabra preservado em glicerina a -20°C. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 23, 2005, Santos, SP. *Anais...* Santos: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2005. p.859.

ALMEIDA, J. F.; NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A.; BARRETO, M. L.; CAMPOS, C. A. M.; AZEVEDO, E. O. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) no diagnóstico de micoplasmose caprina a partir de cultivos estocados em glicerina. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. v.29, n.2, 2007.

AL-MOMANI, W.; HALABLAB, M. A.; ABO-SHEHADA, M. N.; MILES, K.; McAULIFFE, L.; NICHOLAS, R. A. J. Isolation and molecular identification of small ruminant micoplasmas in Jordan. *Small Ruminant Research*, v.65, p.106-112, 2006.

ALVES, F. S. F.; Leite de Cabra e Derivados: As Barreiras Sanitárias. EMBRAPA. Disponível em: <http://www.caprtec.com.br/artigos_embropa020819b.htm>. Acesso em 15 Set. 2004.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. P. A importância do leite de cabra na nutrição humana. 2004. Disponível em: <http://www.caprtec.com.br/artigos_embropa.htm>. Acesso em 27 de setembro de 2004.

ANDRADE, P. V. D.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M.; FERREIRA, J. M. Características microbiológicas e físico-químicas do leite de cabra submetido à pasteurização lenta pós-envase e ao congelamento. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.5, p.1424-1430, 2008.

AZEVEDO, E. O.; ALCÂNTARA, M. D. B.; NASCIMENTO, E. R.; TABOSA, I. M.; BARRETO, M. L.; ALMEIDA, J. F.; ARAÚJO, M. D. O.; RODRIGUES, A. R. O.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R. S. Contagious Agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: First report. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, p. 576-581, 2006.

BARBOSA, C.P.; BENEDETTI, E.; RIBEIRO, S.C.A.; GUIMRÃES, E.C. Relação entre Contagem de Células Somáticas (CCS) e os resultados do “California Mastitis Test” (CMT), no diagnóstico de mastite bovina. *Bioscience Journal*, v.18, n.1, p.93-102, 2002.

BARKEMA, H.W.; SCHUKKEN, Y.H.; LAM, T.J.G.M.; BEIBOER, M.L.; BENEDICTUS, G.; BRAND, A. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.81, n.7, p.1917-1927, 1998.

BARROS, G. C.; LEITÃO, C. H. S. Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.12, n.3 e 4, p.45-48, 1992.

BATISTA, M. C. S.; CASTRO, R. S.; CARVALHO, F. A. A.; CRUZ, M. S. P.; SILVA, S. M. M. S.; REGO, E. W.; LOPES, J. B. Anticorpos anti-lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos integrantes de nove municípios piauienses. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, v. 7, n.2 e 3, p. 75-81, 2004.

BAUER, A.W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BERGONIER, D.; BERTHELOT, X.; POUMARAT, F. Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, v.16, n.3, p.848-873, 1997.

BEZERRA, A. C. A.; FEIJÓ, F. M. C.; SILVA, J. S.; AVELINO, D. B. Relação entre o “California Mastitis Test” e os agentes microbianos de mastites em caprinos no estado do Rio Grande do Norte. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.28, n.4, p.160-165, 2006.

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. 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, p.199-206, 2007.

BOCHEV, I.; RUSSENOVA, N. Resistance of *Staphylococcus* spp. Strains isolated from goats with subclinical mastitis. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. v.8, n.2, p.109-118, 2005.

BORGES, C. H. P. Custos de produção do leite de cabra na região sudeste do Brasil. 2006. Disponível em: <<http://www.farmpoint.com.br>>. Acesso em 17 de novembro de 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 37 de 31 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. 2000. Disponível em: <http://www.engetecno.com.br/legislacao/leite_rtfiq_leite_cabra.htm>. Acesso em 15 de setembro de 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. II Métodos Físicos e Químicos. Cap. 14: Leite Fluido. Brasília, DF., 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 22 de 14 de Abril de 2003. Anexo – Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. 2003.

BRITO, M. A.V. P.; BRITO, J. R. F. O efeito da mastite no leite. In: BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. *A qualidade do leite*. Juiz de Fora: Embrapa/São Paulo: Tortuga, 1998. p. 83-90.

BRITO, M. A.V. P.; BRITO, J. R. F. Diagnóstico microbiológico da mastite. Circular Técnica, n.55. Juiz de Fora, MG, 1999.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. Como (re) conhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos. Circular Técnica. Juiz de Fora, MG, 2002. Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br/publicações/CT70.pdf>>. Acesso em 03 de novembro de 2004.

BRITO, M. A. V. P.; LANGE, C. C. Resíduos de antibióticos no leite. Comunicado Técnico, n.44. Juiz de Fora, MG, 2005. Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/publicacoes/comunicado/COT44.pdf>>. Acesso em 30 de janeiro de 2008.

CALLADO, A. K. C.; CASTRO, R. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maed-visna): revisão e perspectivas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.21, n.3, p.87-97, 2001.

CHAPAVAL, L. Programa de Controle da Mastite Caprina – PCMC. Embrapa Caprinos. Comunicado Técnico. v.80, p.1-5. 2007. Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br>>. Acesso em julho de 2008.

CHAPAVAL, L. Mastite em cabras leiteiras x qualidade do leite: pontos importantes para produzir alimentos seguros. *PUBVET*, Londrina. v.2, n.41, artigo 400. 2008. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/texto.php?id=400>>. Acesso em agosto de 2008.

CONTRERAS, A.; CORRALES, J. C.; LUENGO, C.; SÁNCHEZ, A. Significance of pathogens in goat mastitis. In: International Conference on Goats, 7, 2000, France. p.753-754.

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

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

CONTRERAS, A.; MIRANDA, R. E.; SÁNCHEZ, A.; DE LA FE, C.; SIERRA, D.; LUENGO, C.; CORRALES, J. C. Presence of *Mycoplasma* species and somatic cell counts in bulk-tank goat milk. *Small Ruminant Research*, v.75, p.247-251, 2008.

CONTRERAS, A.; PAAPE, M. J.; MILLER, R. H. Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a comercial dairy goat herd. *Small Ruminant Research*, v.31,p.203-208, 1999.

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.

COSTA, E. O.; Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. *Higiene Alimentar*, v.10, n.44, p.15-17, 1996.

COSTA, G. A.; HOFER, E. Isolamento e identificação de enterobactérias. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 1972. 120p.

COSTA, G. A.; VERNIN, C. S. Sobre uma modificação do meio Monteverde. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.55, n.1, p.115-120, 1955.

COTTEW, G.S. Caprine - ovine *Mycoplasmas*. In: TULLY, J. G.; WHITCOMB, R. F. *The Mycoplasmas. Human and animal Mycoplasmas*. Academic Press, London, p. 103-132, 1979.

COUTINHO, C. E. R. Investigação da ocorrência de *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Campylobacter* spp. e *Pseudomonas* spp. no trato intestinal de avestruzes (*Struthio camelus*) criados no Estado do Rio de Janeiro. 2005. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Veterinária) – Faculdade de Veterinária, UFF, Niterói, RJ, 2005.

CUNHA, R.G., NASCIMENTO, M.D. Ocorrência de anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em soros de caprinos do estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.17, p.72-75, 1995.

DaMASSA, A. J. Recovery of *Mycoplasma agalactiae* from mastitic goat milk. *JAVMA*, v.183, p. 548-549, 1983.

DaMASSA, A. J.; BROOKS, D. L.; HOLMBERG, C. A.; MOE, A. I. Caprine mycoplasmosis: An outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *Veterinary Record*, v. 120, p. 409-413, 1987.

DaMASSA, A. J.; WAKENELL, P. S.; BROOKS, D. L. *Review Article. Mycoplasmas of goats and sheep. Journal of the Veterinary Diagnostic Investigation*, v.4, p.101-113, 1992.

DEDIEU, L.; MADY, V.; LEFREVE, P. Development of two PCR assays for the identification of micoplasmas causing contagious agalactiae. *FEMS Microbiology Letters*, v.129, p.243-250, 1995.

DEINHOFER, M.; PERNTHANER, A. *Staphylococcus* spp. as mastitis-related pathogens in goat milk. *Veterinary Microbiology*, v.43, p.161-166, 1995.

DE LA FE, C.; ASSUNÇÃO, P.; ANTUNES, T.; ROSALES, R. S.; POVEDA, J. B. Microbiological survey for *Mycoplasma* spp. in a contagious agalactia endemic área. *The Veterinary Journal*, v. 170, p. 257-259, 2005.

EDWARDS, P. R.; EWING, W. H. Identification of Enterobacteriaceae. 3ed. Minnesota: Burges Publishing Co., 1972. 362p.

EGWU, G. O.; AMEH, J. A.; ALIYU, M. M.; MOHAMMED, F. D. Caprine mycoplasmal mastitis in Nigeria. *Small Ruminant Research*, v.39, p.87-91, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Leite: Novos produtos devem diversificar mercado. *Caprinos & Ovinos em foco*. Informativo Nacional do Centro de Pesquisas de caprinos. Ano 1, n.7, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. 2007. FAOSTAT – FAO Statistics Division/Prod STAT: livestock (primary and processed). Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/596/DesktopDefault.aspx?PageID=569>>. Acesso em 15 de Agosto de 2008.

FONSECA, C. R.; PORTO, E.; DIAS, C. T. S.; SUSIN, I. Qualidade do leite de cabra *in natura* e do produto pasteurizado armazenados por diferentes períodos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n.4, p.944-949, 2006.

FRANKE, C. R. Uma virose emergente ameaça o rebanho caprino nacional: Artrite-Encefalite Caprina (CAE). *Revista Bahia Agrícola*. v.2, n.3, 1998.

FREIRAS, M. F. L.; LEAL BALBINO, T. C.; MOTA, R. A.; STAMFORD, T. L. M. Exotoxinas estafilocócicas. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, v.7, n.2 e 3, p.63-74, 2004.

FREUNDT, E. A. Culture media for classic mycoplasmas. In: RAZIN, J. S.; TULLY, J. G. *Methods in Micoplasmology*. Mycoplasma characterization. New York: Academic Press, 1983. 500p. v.1. p.127-135.

FROTA, M. N. L.; SILVA, J. B. A.; ARAÚJO, S. A. C.; TEIXEIRA, M. F. S. Artrite Encefalite Caprina em cabritos de rebanhos com programa de controle no estado do Ceará. *Arquivos do Instituto Biológico*. v.72, n.2, p.147-152, 2005.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene do leite: aspectos gerais das mastites. *Higiene Alimentar*. v.9, n.36, p.12-16, 1995.

GOMES, M. J. P.; FEITOSA, M. H.; KHRAL, M.; FERNANDES, R. E.; NASCIMENTO, E. R.; PORTUGAL, M. A. S. C. Micoplasmose caprina: pneumonia. Primeiro relato no Brasil de *Mycoplasma arginini*. *Higiene Alimentar*, v.8, p.18-20, 1994.

GOMES, V.; LIBERA, A. M. M. P. D.; MADUREIRA, K. M.; ARAÚJO, W. P. Influência do estágio de lactação na composição do leite de cabras (*Capra hircus*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.41, n.5, p.339-342, 2004.

GRECO, G.; CORRENTE, M.; MARTELLA, V.; PRATELLI, A.; BUONAVOGLIA, D. A multiplex-PCR for the diagnosis of contagious agalactia of sheep and goats. *Molecular Cellular Probes*, v.15, p. 21-25, 2001.

GREGORY, L.; CARDOSO, M. V.; BIRGEL JÚNIOR, E. H.; TEIXEIRA, S. R.; SOUZA, R. M.; PACHECO, W. A.; BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. Surto de ceratoconjuntivite infecciosa dos caprinos causada por *Mycoplasma conjunctivae* em caprinos adultos, criados no estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.70, p.179-181, 2003.

GREGORY, L.; SILVA, L. C. L. C.; ANGELINI, M.; LARA, M. C. C. S. H.; FRANCHINI, M. L.; RIZZO, E. H.; CARDOSO, M. V.; BENESI, F. J.; CASTRO, R. S. Avaliação clínica de caprinos acometidos por artrite. Diferencial entre artrite viral (CAE) e bacteriana (*Mycoplasma* spp.) em dois casos atendidos no hospital veterinário da FMVZ-USP. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, v.73, n.2, p.247-249, 2006.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Censo Agropecuário 2006. Resultados Preliminares. 146p. 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 17 de novembro de 2008.

JANG, S. S.; BIBERSTEIN, E. L.; HIRSH, D. C. Microbiological Diagnosis. In: *A diagnostic manual of veterinary clinical bacteriology and mycology*. University of California, Davis, 1988. 228p. 4ed. p.11-167.

KIRK, J. H.; GLENN, J. S. Mastitis in ewes. In: *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, Lawrence, 1996. v.18, n.5, p.582-591.

KUPPEVELD, F. J. M.; LOGT, J. T. M.; ANGULO, A. F.; ZOEST, M. J.; QUINT, W. G. V.; NIESTERS, H. G. M.; GALAMA, J. M. D.; MELCHERS, W. J. G. Genus and species-specific identification of Mycoplasmas by 16S rRNA amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, p.2606-2615, 1992.

LAGUNA, L. E. O Leite de Cabra como Alimento Funcional. EMBRAPA. Disponível em: <http://www.caprtec.com.br/artigos_embra030609a.htm>. Acesso em 15 de setembro de 2004.

LARA, M. C. C. S. H. Palestra. Artrite Encefalite dos Caprinos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.68, n.1/2, p.21-23, 2006.

LARA, M. C. C. S. H.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; GREGORY, L.; BIRGEL, E. H. Aspectos clínicos da artrite-encefalite dos caprinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, n.6, p.736-740, 2005.

LE GRAND, D.; SARAS, E.; BLOND, D.; SOLSONA, M.; POUMARAT, F. Assessment of PCR for routine identification of species of the *Mycoplasma mycoides* cluster in ruminants. *Veterinary Research*, v.35, p.635-649, 2004.

LEITE, B. L. S.; MODOLO, J. R.; PADOVANI, C. R.; STACCHISSINI, A. V. M.; CASTRO, R. S.; SIMÕES, L. B. Avaliação da taxa de ocorrência da Artrite-Encefalite Caprina a vírus pelas regionais do escritório de defesa agropecuária do Estado de São Paulo, Brasil, e seu mapeamento por meio de sistema de informações geográficas. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo. v.71. n.1. p.21-26. 2004.

LILENBAUM, W.; SOUZA, G. N.; RISTOW, P.; MOREIRA, M. C.; FRÁGUAS, S.; CARDOSO, V.S.; OELEMANN, W. M. R. A serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis–encephalitis virus and *Leptospira* in dairy goats in Rio de Janeiro, Brazil. *The Veterinary Journal*, v.173, p.408–412, 2007.

LIMA JÚNIOR, A. D.; NADER FILHO, A.; VIANNI, M. C. E. Sensibilidade “in vitro” dos *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativos, isolados em casos de mastite caprina, à ação de antibióticos e quimioterápicos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.45, n.3, p.291-296, 1993.

MACIEL, F. C. Manejo sanitário de caprinos e ovinos. *Circuito de tecnologias adaptadas para a agricultura familiar*. EMPARN, Natal, RN. 2006. v.3. 32p.

MADANAT, A.; ZENDULKOVÁ, D.; POSPISIL, Z. Contagious agalactia of sheep and goats. A review. *Acta Veterinaria BRNO*, v.70, p. 403-412, 2001.

MAGALHÃES, A. C. M. Obtenção higiênica e parâmetros de qualidade do leite de cabra. Viçosa, MG, 2005. Disponível em: <http://www.cpd.ufv.br/caprinos/artigos_tec/hig_quali.pdf>. Acesso em 31 de outubro de 2007.

MANSER, P.A. Prevalence, causes and laboratory diagnosis of subclinical mastitis in the goat. *Veterinary Record*. v.118, n.20, p. 552-554, 1986.

MARCHESIN, D. M.; MOOJEN, V.; RAVAZZOLO, A. P. Caracterização molecular parcial do gene *gag* de amostras do vírus da artrite-encefalite caprina (CAEV) isoladas de animais naturalmente infectados no Rio Grande do Sul, Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.18, n. 3/4, p.119-126, 1998.

MARIANO, F. A.; Detecção e identificação de enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus* sp. provenientes de leite de cabras das regiões Norte e Serrana do Estado do Rio de Janeiro. 2000. Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Pages/CCTA/LSA/?modelo=1&cod_pag=1926&id=3677&np=&t>. Acesso em 02 de agosto de 2008.

MARTIN, S. W.; MEEK, A. H.; WILLEBERG, P. *Veterinary Epidemiology: Principles and Methods*. 4. ed. Iowa: Iowa State University Press/ Ames, 1994. 343p.

MARTINS, E. C.; GARAGORRY, F. L.; CHAIB FILHO, H. Evolução da Caprinocultura Brasileira no período de 1975 a 2003. *Comunicado Técnico On line*. 2006. Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br>>. Acesso em 18 de novembro de 2008.

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*, Santa Maria, v.27, n.1, p.113-117, 1997.

MOOJEN, V., SOARES, H.C., RAVAZZOLO, A.P., DAL PIZZOL, M., GOMES, M. Evidência de infecção pelo lentivírus (Maedi-Visna/artrite-encefalite caprina) em caprinos no Rio Grande do Sul, Brasil. *Arquivo da Faculdade de Veterinária*, UFRGS. v.14, p.77-8, 1986.

MOTA, R.A. Aspectos Epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. *Tecnologia e Ciência Agropecuária*, v.2, n.3, p.57-61, 2008.

MURRAY, P. R.; DREW, W. L.; KOBAYASHI, G. et al. *Microbiologia Médica*. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992, 513p.

NACIONAL MASTITIS COUNCIL – NMC. *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. USA: Nacional Mastitis Council, Inc, 1999a. 222p.

NACIONAL MASTITIS COUNCIL - NMC. *Current concepts of bovine mastitis*. USA: Nacional Mastitis Council, Inc, 1999b. 64p.

NASCIMENTO, M. G. F.; NASCIMENTO, E. R. Isolamento de *Mycoplasma arginini* em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 18, 1982, Camboriú, SC. *Anais...* Santa Catarina: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária Sociedade dos Médicos Veterinários de Santa Catarina, 1982. p.74.

NASCIMENTO, M. G. F.; NASCIMENTO, E. R. Estocagem e sobrevivência de várias espécies de micoplasmas a -20°C. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 19, 1984, Belém. *Anais...* Belém: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária Sociedade dos Médicos Veterinários do Pará, 1984. p.307.

NASCIMENTO, E.R.; NASCIMENTO, M.G.F.; FREUNDT, E.A.; ANDERSEN, H. Isolation of *Mycoplasma mycoides* from outbreaks of caprine mycoplasmosis in Brazil. *British Veterinary Journal*, v.142, p.246-257, 1986.

NASCIMENTO, E. R.; BARRETO, M. L.; PLATENIK, M. O.; AZEVEDO, E. O.; TABOSA, I. M.; ALCÂNTARA, M. D. B.; ALMEIDA, J. F.; NASCIMENTO, M. G. F. Agalaxia Contagiosa por *Mycoplasma agalactiae* em Caprinos no Brasil. Estudo Etiológico. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR MYCOPLASMOLOGY (IOM), 14, 2002, Viena. *Abstract Book...* Viena: Austrian Society for Hygiene, Microbiology and Preventive Medicine (ÖGHMP), 2002. p.45.

OLIVEIRA, S. J. *Guia Bacteriológico Prático*. Microbiologia Veterinária. ULBRA: Canoas, RS, 1994, 142p.

OLIVEIRA, C. A. F. Qualidade do leite no processamento de derivados. In: GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. *Higiene e vigilância Sanitária de Alimentos*. 3ed. Editora Manole LTDA: Barueri, SP, 2008. Cap.5, p.115-129.

PARK, Y. W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v.68, p.88-113, 2007.

PENHA, A. M.; D'ÁPICE, M. Agalaxia contagiosa das cabras em São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.13, p.299-304, 1942.

PEREIRA, J. S.; MOREIRA, L. H.; RISTOW, A. M.; MARINI, S.; TAVARES, D. V. A. M.; ARAGÃO, I. K. M. B. Levantamento da Contagem de Células Somáticas (CCS) e componentes do leite de cabras da raça Saanen criadas no município de Teresópolis – RJ. *Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida*, v.26, p.439-440, 2006.

PEREIRA, R. A. G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; VIANNA, R. P. T.; OLIVEIRA, M. E. G. Qualidade química e física do leite de cabra distribuído no Programa Social “Pacto Novo Cariri” no Estado da Paraíba. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v.64, n.2, p.205-211, 2005.

PERSSON, A.; PETTERSSON, B.; BÖLSKE, G.; JOHANSSON, K. Diagnosis of Contagious Bovine Pleuropneumonia by PCR–Laser-Induced Fluorescence and PCR-Restriction Endonuclease Analysis Based on the 16S rRNA Genes of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC. *Journal of Clinical Microbiology*, v.37, n.12, p.3815-3821, 1999.

PEYRAUD, A.; WOUBIT, S.; POVEDA, J. B.; DE LA FE, C.; MERCIER, P.; THIAUCOURT, F. A specific PCR for the detection of *Mycoplasma putrefaciens*, one of the agents of the contagious agalactia syndrome of goats. *Molecular and Cellular Probes*, v.17, p.289-294, 2003.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Prevalência da infecção pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.3, p.449-454, 2001.

PRATA, L. F.; RIBEIRO, A.C.; REZENDE, K. T.; CARVALHO, M. R. B.; RIBEIRO, S. D. A.; COSTA, R. G. Composição, perfil nitrogenado e características do leite caprino (Saanen). Região Sudeste. Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.18, n.4, p.428-432, 1998.

QUADROS, D. G. Leite de cabra: produção e qualidade. *Pubvet*. v.2, n.1, 2008. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/texto.php?id=110>>. Acesso em 10 de Agosto de 2008.

QUEIROGA, R. C. R. E.; COSTA, R. G.; BISCONTINI, T. M. B.; MEDEIROS, A. N.; MADRUGA, M. S.; SHULER, A. R. P. Influência do manejo do rebanho, das condições higiênicas da ordenha e da fase de lactação na composição química do leite de cabras Saanen. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.2, p.430-437, 2007.

QUEIROGA, R. C. R. E.; TRIGUEIRO, I. N. S.; FERREIRA, M. C. C. Caracterização do leite de cabras mestiças do Brejo Paraibano, durante o período de lactação. *Higiene Alimentar*, v.12, n.58, p.77-80, 1998.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. *Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. Artmed: Porto Alegre, 2005, 512p.

RAPINI, L. S.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CARMO, L. S.; VERAS, J. F.; SOUZA, M. R. Presença de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico em manipuladores de queijo de cabra. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, n.6, p.825-829, 2005.

RIBEIRO, S. D. A. Mercado e tecnologia de processamento. *Caprinocultura*. Criação racional de caprinos. São Paulo: Nobel, 1997. 318p. Cap.11, p.249-270.

RIBEIRO, M. G.; LARA, G. H. B.; BICUDO, S. D.; SOUZA, A. V. G.; SALERMO, T.; SIQUEIRA, A. K.; GERALDO, J. S. An unusual gangrenous goat mastitis caused by *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli* co-infection. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.3, p.810-812, 2007.

RIBEIRO, V. R.; NASCIMENTO, E. R.; FACCINI, J. L. H.; NASCIMENTO, M. G. F.; LIGNON, G. B. Presença de micoplasma em exemplares de *Raillietia caprae* coletados do conduto auditivo externo de caprinos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.17, n.3, p.122-124, 1995.

ROSENBUSCH, R. F. Biology and Taxonomy of the Mycoplasmas. In: WHITFORD, H. W.; ROSENBUSCH, R. F.; LAUERMAN, L. H. *Mycoplasmosis in Animals: Laboratory Diagnosis*. Iowa: Iowa State University Press/Ames, 1994. 173p. Cap.1, p.3-11.

RUTKOSKI, J. K.; WERENICZ, R.; REISCHAK, D.; WENDELSTEIN, A. C.; MOOJEN, V.; RAVAZZOLO, A. P. Detecção da infecção pelo vírus da artrite-encefalite caprina: imunodifusão em ágar e reação em cadeia da polimerase com “primers” degenerados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.53, n.6, p.635-640, 2001.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2.ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. v.2, Cap.14.

SANTOS, R. Prótidos de la leche. Dosificación de la caseína. Método Sorensen-Walker modificado. In: SANTOS, R. *Método Analítico de Laboratório Lactológico*. VI. 1952. 913p. Pt. 2. Cap.16, p.389-390.

SANTOS, L. F. L.; CASTRO, R. S.; COSTA, E. O. “California Mastitis Test” e “Whiteside Modificado” como critério de triagem para a mastite caprina. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 30, n.2, p. 295-298, 1995.

SANTIN, A. P. I.; BRITO, W. M. E. D.; REISCHAK, D.; BRITO, L. A. B. Artrite Encefalite Caprina: identificação de animais soropositivos no Estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, v. 3, n.1, p. 67-71, 2002.

SELL, B. E. Prevalência de anticorpos para o vírus da artrite-encefalite caprina em soros de caprinos no Estado de Santa Catarina. Monografia apresentada à coordenadoria de Pós-graduação do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, SC, 2000.

SILVA, E. R.; ARAÚJO, A. M.; ALVES, F. S. F. A.; PINHEIRO, R. R.; SAUKAS, T. N. Associação entre o California Mastitis Test e a Contagem de Células Somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.38, n.1, p.46-48, 2001.

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.

SILVA, E. R.; SIQUEIRA, A. P.; MARTINS, J. C. D.; FERREIRA, W. P. B.; SILVA, N. Identification and in vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goats mastitis in the Northeast of Brazil. *Small Ruminant Research*, v.55, p.45-49, 2004.

SOBREIRA, A.; MARTINS, C.; LEÃO, J. A. *Técnicas Gerais de Laboratório*. Cap.9. Bacteriologia. Coloração de Gram. São Paulo: Livraria Editora, 1982. 96p.

THRUSFIELD, M. *Veterinary Epidemiology*. 2ed. 2003. 483p.

TOLA, S.; ANGIOI, A.; ROCCHIGIANI, A. M.; IDINI, G.; MANUNTA, D.; GALLERI, G.; LEORI, G. Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, v.54, p.17-22, 1997.

TONIN, F. B.; NADER FILHO, A. Influência do estágio de lactação, hora e número de ordenhas sobre o teor de cloretos no leite caprino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.54, n.1, p.64-67, 2002.

TURIN, L.; PISONI, G.; GIANNINO, M. L.; ANTONINI, M.; ROSATI, S.; RUFFO, G.; MORONI, P. Correlation between milk parameters in CAEV seropositive and negative primiparous goats during an eradication program in Italian farm. *Small Ruminant Research*, v.57, n.1, p.73-79, 2005.

VIANNI, M.; FONTANA, C. A. P. Mastite subclínica caprina e sua correlação entre o número de células somáticas e a contagem de bactérias patogênicas. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4; SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA, 5, 1999, Recife, PE. *Anais...* Pernambuco: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária - SPEMVE, 1999. p.249-250.

VILANOVA, M.; GONÇALVES, M.; OSÓRIO, M. T. M.; ESTEVES, R.; SCHMIDT, V. Aspectos sanitários do úbere e composição química do leite de cabras Saanen. *Acta Scientiae Veterinarie*, v.36, n.3, p.235-240, 2008.

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

WHITFORD, H. W. Isolation of Mycoplasmas from Clinical Specimens. In: WHITFORD, H. W.; ROSENBUSCH, R. F.; LAUERMAN, L. H. *Mycoplasmosis in Animals: Laboratory Diagnosis*. Iowa: Iowa State University Press/Ames, 1994. 173p. Cap.2, p.12-14.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). Contagious Agalactia. 2004. Disponível em: <<http://www.oie.int>>. Última atualização: 3 de junho de 2003. Acesso em 19 de novembro de 2008.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). Caprine Arthritis / Encephalitis and Maedi-visna. Manual of standards Diagnostic Tests and Vaccines. Pt.2. Cap.2.4, 4/5. 2000. Disponível em: <http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/ancien_manuel/A_00020.htm>. Última atualização: 23 de abril de 2004. Acesso em 11 de junho de 2008.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). Caprine Arthritis and Encephalitis. 2007. Disponível em: <<http://www.oie.int>>. Última atualização: 15 de março de 2007. Acesso em 19 de novembro de 2008.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). OIE Listed diseases. 2008. Disponível em: <<http://www.oie.int>>. Última atualização: 21 de janeiro de 2008. Acesso em 19 de novembro de 2008.

ZEUGIN, J. A.; HARTLEY, J. L. Ethanol Precipitation of DNA. *Focus*, Gaithersburg, Maryland, v.7, n. 4, p.1-2,1985.

ZOCCAL, R. Produção mundial de leite de diferentes espécies de animais, 1996-2006. Embrapa Gado de Leite, out. 2007. Disponível em: <<http://www.cnp.gl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0210.php>>. Acesso em 10 de Agosto de 2008.

8 OBRAS CONSULTADAS

ADEHAN, R. K.; AJUWAPE, A. T. P.; ADETOSOYE, A. I.; ALAKA, O. O. Characterization of *Mycoplasmas* isolated from pneumonic lungs of sheep and goats. *Small Ruminant Research*, v.63, p.44-49, 2006.

BERGONIER, D.; CRÉMOUX, R.; RUPP, R.; LAGRIFFOUL, G.; BERTHELOT, X. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*, v.34, p.689-716, 2003.

CASTRO, R. S.; LEITE, R. C.; AZEVEDO, E. O.; RESENDE, M.; GOUVEIA, A. M. G. Seroconversion and seroreactivity patterns of dairy goats naturally exposed to Caprine Arthritis-encephalitis Virus in Brazil. *Ciência Rural*, v.32, n.4, p.603-607, 2002.

CASTRO, R. S.; LEITE, R. C.; RESENDE, M.; MARTINS, A.; GOUVEIA, A. M. G. Isolamento e identificação pela imunofluorescência direta e reação em cadeia da polimerase do vírus da artrite-encefalite caprina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.51, n.3, p.235-240, 1999.

COTTEW, G. S.; BREARD, A.; DaMASSA, A. J.; ERNO, H.; LEACH, R. H.; LEFEVRE, P. C.; RODWELL, A. W.; SMITH, G. R. Taxonomy of the *Mycoplasma mycoides* cluster. *Israel Journal of Medical Sciences*, v.23, p.632-635, 1987.

COTTEW, G. S.; YEATS, F. R.; Occurrence of *Mycoplasmas* in clinically normal goats. *Australian Veterinary Journal*, v.57, p.52-53, 1981.

DEVRIESE, L. A.; SCHLEIFER, K. H.; ADEGOKE, G. O. Identification of Coagulase-negative staphylococci from farm animals. *Journal of Applied Bacteriology*, v.85, p.45-55. 1985.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. Qualidade da ordenha. In: *Higiene e vigilância Sanitária de Alimentos*. 3ed. Editora Manole LTDA: Barueri, SP, 2008. Cap.4, p.101-113.

GONÇALVES, A.L.; LANA, R.P.; VIEIRA, R.A.M.; HENRIQUE, D.S.; MANCIO, A.B.; PEREIRA, J.C. Avaliação de sistemas de produção de caprinos leiteiros na Região Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.2, p.366-376, 2008.

GUIMARÃES, M. P. S. L. M. P.; CORDEIRO, P. R. C. Conheça o destino do leite de cabra produzido no Brasil. Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos de Minas Gerais – ACCOMIG. Disponível em: <<http://www.caprileite.com.br>>. Última atualização em 11 de janeiro de 2007. Acesso em 11 de novembro de 2008.

LAMAITA, H. C.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CARMO, L. S.; SANTOS, D. A.; PENNA, C. F. A. M.; SOUZA, M. R. Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, n.5, p.702-709, 2005.

MAISI, P.; RIIPINEN, I. Use of California Mastitis Test, *N*-acetyl- β -glucosaminidase, and antitrypsin to diagnose caprine subclinical mastitis. *Journal of Dairy Research*. v.55, p.309-314, 1988.

MENDONÇA, A.; VALENTIM, R.; MAURÍCIO, R.; CARDOSO, M.; CORREIA, T.; COELHO, A. Mastites subclínicas em cabras serranas. Resultados preliminares. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.102, n.561 e 562, p.175-180, 2007.

STACHISSINI, A. V. M.; MODOLO, J. R.; CASTRO, R. S.; LEITE, B. L. S.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; PADOVANI, C. R. Controle da Artrite-Encefalite Caprina, em um capril endemicamente contaminado. *Brazilian journal of Veterinary research and Animal Science*, v.44, n.1, p.40-43, 2007.

STAMFORD, T. L. M.; SILVA, C. G. M.; MOTA, R. A.; CUNHA NETO, A. Enterotoxigenidade de *Staphylococcus* spp. isolados de leite *in natura*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n.1, p.41-45, 2006.

9 APÉNDICE

9.1 QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO DAS PROPRIEDADES

Nome da propriedade:

Endereço:

Município:

Estado:

Proprietário:

Telefone:

1 – Geografia da Propriedade

- Tamanho da Propriedade (ha):
- Percentual de morro:
- Clima da região:

2 – Recursos tecnológicos gerais

- Presença de sala de ordenha? Sim; Não
- Tipo de ordenha: Manual; Mecânica
- Tipo de produção: Leite; Leite e derivados: _____

3 – Periodicidade de visita médico-veterinária

- Residente Semanal Quinzenal Mensal Outros

4 – Especialização zootécnica do rebanho

- Número de animais: Cabritos; Novilhas; Cabras; Bodes
- Raça predominante:
- Aptidão: Leiteira Corte Mista
- Apresentação do rebanho: Boa Média Ruim
- Sistema de criação: Intensivo Semi-intensivo Extensivo
- Período de Pastagem: Ininterrupto 6-10h/dia < 6h/dia
- Existe a criação de outras espécies? Quais?
- Espécies animais diferentes mantém contato? Sim Não
- Tipo de monta: Natural Inseminação artificial Mista

5 – Suplementação alimentar

- Uso de ração: Sim Não
- Uso de sal mineral: Sim Não
- Pastagens cultivadas: Não Sim. Quais? _____
- Quais os demais suplementos fornecidos?

6 – Produtividade do rebanho

- Produção leiteira média/dia/anual:
- Fertilidade média do rebanho/ano:

7 – Medidas sanitárias

- Vermifugação: Sim Não Frequência:
- Controle de ectoparasitas: Sim Não
- Vacinas:
- Outras medidas adotadas:

9.2 FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

Proprietário:

Data da coleta:

Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:	Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:
Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:	Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:
Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:	Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:
Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:	Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:
Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:	Nome / N°: Raça: Idade: N° de lactações: Mastite clínica: CMT: Sinais clínicos:

10 ANEXOS

10.1 REQUISITOS SENSORIAIS E FÍSICO-QUÍMICOS PARA O LEITE DE CABRA

Requisitos sensoriais para o leite de cabra (BRASIL, 2000):

- Aspecto líquido, ou quando for o caso, congelado;
- Cor branca; odor e sabor característicos.

Parâmetros físico-químicos exigidos para o leite de cabra (BRASIL, 2000):

- Gordura (% m/m): 0,6 a 2,9, sendo admitidos valores inferiores a 2,9% m/m para as variedades de leite integral e semidesnatado, mediante comprovação de que o teor médio de gordura de um determinado rebanho não atinge esse nível;
- Acidez (% ácido láctico): 0,13 a 0,18 para todas as variedades;
- Sólidos não-gordurosos (%m/m): mínimo de 8,2 para todas as variedades;
- Densidade (15/15°C): 1,028 a 1,034 para todas as variedades;
- Índice crioscópico (°H): -0,550°H a -0,585°H para todas as variedades;
- Proteína Total (N x 6,38) %m/m: mínimo de 2,8 para todas as variedades;
- Lactose (% m/v): mínimo de 4,3 para todas as variedades;
- Cinzas (% m/v): mínimo de 0,70 para todas as variedades;
- Contagem de Células Somáticas (CCS): limite não definido.

10.2 CRITÉRIOS E TOLERÂNCIAS MICROBIOLÓGICAS PARA O LEITE DE CABRA

REQUISITO	CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO	CATEGORIA (ICMSF)	MÉTODO DE ANÁLISE
Microrganismos aeróbios mesófilos (UFC/mL): 1-Pasteurizado 2-Esterilizado/UHT	n=5;c=2;m=1x10 ⁴ ; M=5x10 ⁴ n=5; c=0; m=10	5 10	Portaria S.D.A. / MA 101 de 11/8/93
Coliformes/mL (30/35°C) 1-Pasteurizado 2-Esterilizado/UHT	n=5; c=2; m=2; M=4 n=5; c=0; m=0	5 5	Portaria S.D.A. / MA 101 de 11/8/93
Coliformes/mL (45°C) 1-Pasteurizado 2-Esterilizado/UHT	n=5; c=2; m=0; M=1 n=5; c=0; m=0	5 5	Portaria S.D.A. / MA 101 de 11/8/93
<i>Salmonella</i> spp./ 25 MI Pasteurizado/Esterilizado/UHT	N=5; c=0; m=0	10	Portaria S.D.A. / MA 101 de 11/8/93

Fonte: BRASIL (2000)