



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

Marielly Bastos Cavalcante

**ASPECTOS PRODUTIVO E SANITÁRIO DE CRIAÇÕES DE
CAPRINOS LEITEIROS E CORRELAÇÃO DE TÉCNICAS DE
DIAGNÓSTICO DA MASTITE CAPRINA EM PERNAMBUCO**

PETROLINA – PE
2012

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

Marielly Bastos Cavalcante

**ASPECTOS PRODUTIVO E SANITÁRIO DE CRIAÇÕES DE
CAPRINOS LEITEIROS E CORRELAÇÃO DE TÉCNICAS DE
DIAGNÓSTICO DA MASTITE CAPRINA EM PERNAMBUCO**

Trabalho apresentado à Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Ciências Agrárias, como requisito para Disciplina Seminário II.

Orientador: Prof. Mateus Matiuzzi da Costa

PETROLINA - PE
2012

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre presente em minha vida, dando-me forças para superar todas as adversidades e obstáculos em meu caminho.

Aos meus pais, que sempre me dão apoio no que eu precisar. São eles que me dão força para continuar a minha batalha.

À minha irmã, Noelly, pelo exemplo de perseverança e humildade e por estar sempre ao meu lado quando eu precisei.

Ao professor Mateus Matiuzzi da Costa, pelos anos de orientação e por ser o responsável pelo meu crescimento durante todo esse tempo. Agradeço por toda a confiança que depositou em mim durante o desenvolvimento das atividades.

Aos meus colegas do Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal, Wellington, Ceíça, Gisele, Rodolfo, Luciana, Milka, Carina, Jusciêne, Evandro, Alan, Keidy, Gilvan, Grace, Izabela, Jamille, Jarbas, Jennifer, Naedja, Renilde, Samily, Samira, Taty e Chirles pelo companheirismo.

A todos aqueles que me ajudaram diretamente durante o mestrado, em especial Wellington, Ceíça, Jusciêne, Rodolfo, Luciana, Carina, Evandro, Alan e Keidy.

Aos bolsistas de IC júnior Jonieudes e Marcelo pela ajuda que me deram durante o desenvolvimento da pesquisa.

Aos simpáticos criadores pelo ótimo recebimento e por permitirem a coleta das amostras de leite, muito obrigada.

À Capes pela concessão da bolsa de pós-graduação.

E, finalmente, a todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

LISTA DE TABELAS

Artigo 1	Pág.
Tabela 1. Caracterização dos estabelecimentos rurais de propriedades localizadas nos municípios de Petrolina-PE e Santa Maria da Boa Vista-PE	29
Tabela 2. Caracterização dos aspectos relacionados ao manejo sanitário de propriedades localizadas nos municípios de Petrolina-PE e Santa Maria da Boa Vista-PE.....	31
Tabela 3. Caracterização sobre a obtenção higiênico sanitária do leite de propriedades localizadas em Petrolina-PE e Santa Maria da Boa Vista-PE.....	32
Tabela 4. Frequências absoluta e relativa das amostras positivas para o <i>California Mastitis Test</i> (CMT) obtidas de cabras leiteiras em Pernambuco, 2011/2012.....	33
Tabela 5. Frequências absoluta e relativa do exame microbiológico obtido a partir de leite de cabras em Pernambuco, 2011/2012.....	34
Tabela 6. Fatores de riscos associados ou não a mastite para cabras leiteiras criadas em Pernambuco, 2011/2012.....	35
Tabela 7. Fatores de riscos (ligados ao manejo na ordenha) associados ou não a mastite para cabras leiteiras criadas em Pernambuco, 2011/2012.....	37

LISTA DE TABELAS

Artigo 2	Pág.
Tabela 1. Iniciadores utilizados para caracterização molecular dos isolados de <i>Staphylococcus</i> spp.....	54
Tabela 2. Análise comparativa entre o exame microbiológico e CMT de casos de mastite caprina em Pernambuco, 2011/2012.....	55
Tabela 3. Análise comparativa entre o exame microbiológico e a citologia de expressão (entre 50 e 70% de neutrófilos) de casos de mastite caprina em Pernambuco, 2011/2012.....	56
Tabela 4. Análise comparativa entre exame microbiológico e citologia de expressão (nº de neutrófilos igual ou maior que 70%) de casos de mastite caprina em Pernambuco, 2011/2012.....	56
Tabela 5. Concordância entre as técnicas de violeta de genciana e PCR de cepas de <i>Staphylococcus</i> spp., isoladas de amostras de leite oriundas de casos de mastite caprina, 2011/2012.....	57
Tabela 6. Presença de <i>Staphylococcus</i> spp. biofilme-positivos em amostras de leite de caprino submetidas ao teste de CMT, 2011/2012.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Bap	Biofilm Associated Protein
CCS	Contagem de células somáticas
CECS	Contagem eletrônica de células somáticas
CMT	<i>California Mastitis Test</i>
NE	Nordeste
PCR	Polymerase Chain Reaction
PE	Pernambuco
PIA	Polissacarídeo de adesão intercelular
PNAG	N-acetilglicosamina polimérica
PS/A	Polissacarídeo Capsular Adesina
RN	Rio Grande do Norte
RNA	Ácido ribonucléico
SCN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
SCP	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva
WMT	Wisconsin Mastitis Test

LISTA DE SÍMBOLOS

$\%$ Porcentagem

α Alfa

β Beta

γ Gama

δ Delta

\geq Maior ou igual

$+$ Positivo

$-$ Negativo

SUMÁRIO

Lista de tabelas – artigo 1	02
Lista de tabelas - artigo 2	03
Lista de abreviaturas e siglas	04
Lista de símbolos	05
Resumo	07
Abstract	08
1. Introdução	10
2. Revisão de literatura	11
2.1. Caprinocultura leiteira no Brasil.....	11
2.2. Caprinocultura leiteira no Nordeste.....	12
2.3. Impacto da Mastite na Caprinocultura Leiteira.....	13
2.4. Aspectos gerais da Mastite.....	14
2.5. Gênero <i>Staphylococcus</i> x mastite caprina.....	14
2.6. Importância dos biofilmes.....	15
2.7. Métodos de Diagnóstico da Mastite.....	18
2.7.1. <i>California Mastitis Test</i> (CMT).....	19
2.7.2. Citologia de Expressão.....	20
2.7.3. Cultura Bacteriológica.....	21
2.8. Estratégias de Controle e Prevenção.....	21
Artigo 1	23
Resumo.....	23
Abstract.....	24
1. Introdução.....	25
2. Material e métodos.....	26
2.1. Local e animais de estudo.....	26
2.2. <i>California Mastitis Test</i> (CMT) e exame microbiológico.....	27
2.3. Análise estatística.....	27
3. Resultados.....	28
4. Discussão.....	37
5. Conclusões.....	42
6. Referências bibliográficas.....	43
Artigo 2	47

Resumo.....	47
Abstract.....	48
1. Introdução.....	49
2. Material e métodos.....	51
2.1. Animais e local de coleta.....	51
2.2. Teste de CMT.....	51
2.3. Citologia de expressão.....	51
2.4. Coleta das amostras de leite.....	52
2.5. Isolamento e identificação bacteriana.....	52
2.6. Análise da produção de biofilme.....	53
2.7. Caracterização molecular da produção de biofilme em isolados de <i>Staphylococcus</i> spp.....	54
3. Análise estatística.....	54
4. Resultados.....	55
5. Discussão.....	58
6. Conclusões.....	62
Referências bibliográficas.....	63
Referências bibliográficas.....	68
Apêndice.....	77

RESUMO

A produção leiteira no vale do São Francisco é considerada importante atividade econômica que visa garantir a produtividade em pequenas propriedades rurais. Entretanto, a mastite se constitui uma grave fonte de prejuízos, seja pela redução na quantidade e qualidade do leite produzido, como nos gastos com medicamentos e serviços veterinários. Objetivou-se avaliar as condições de criação de caprinos leiteiros, conhecer os fatores de risco bem como os principais patógenos da mastite nesses animais, correlacionar técnicas de detecção da mastite subclínica, além de caracterizar, fenotípica e genotipicamente, micro-organismos formadores de biofilmes. Foram visitadas 16 propriedades localizadas em Pernambuco onde foram aplicados questionários e, posteriormente, coletou-se amostras de leite de 269 cabras, totalizando 538 amostras. Foram realizados os testes de *California Mastitis Test* (CMT), lactocultura e citologia de expressão, além das técnicas de violeta de Genciana e PCR para determinar o potencial de produção de biofilme dos micro-organismos. Foram isoladas 95 cepas de *Staphylococcus* sendo, em sua maioria, do grupo dos coagulase-negativos. Quanto à análise de concordância entre CMT, lactocultura e citologia de expressão, os valores relativos ao índice kappa foram: $K=0,13$, $K=0,03$ e $K=0,05$, para CMT, citologia de expressão entre 50 e 70% de neutrófilos e com quantidade de neutrófilos acima de 70%, respectivamente. Observou-se que o número de animais do rebanho, pasto inadequado, fonte de água de origem duvidosa, aquisição de animais de propriedades vizinhas, mão-de-obra familiar, assistência veterinária e realização de pós-dipping, são fatores associados à presença de infecção da glândula mamária em cabras leiteiras. No estudo feito para análise de biofilme, 75 isolados foram produtores de biofilme em placas, sendo que 38 apresentaram o gene *icaD*. As práticas de manejo adotadas devem estar adequadas para uma criação leiteira, de forma a não comprometer a qualidade do leite, evitando o aparecimento de micro-organismos resistentes e, conseqüentemente, melhorando a produção.

Palavras-chave: mastite caprina, CMT, *Staphylococcus* spp., biofilme, PCR

ABSTRACT

Milk production in the valley of San Francisco is considered an important economic activity that aims to ensure productivity on small farms. However, if mastitis is a serious source of loss, either by reducing the quantity and quality of milk produced, as the medical expenses and veterinary services. The objective was to evaluate the conditions for rearing dairy goats, known risk factors as well as major mastitis pathogens in these animals, correlating techniques for detecting subclinical mastitis, and characterize phenotypic and phenotypically, microorganisms forming biofilms. We visited 16 properties located in Pernambuco where questionnaires were applied and subsequently was collected milk samples from 269 goats, totaling 538 samples. Tests were *California Mastitis Test* (CMT), microbiological examination and cytology of expression, besides the techniques of gentian violet and PCR to determine the potential of biofilm production of micro-organisms. We isolated 95 strains of *Staphylococcus* and, mostly, the group of coagulase-negative. The analysis of correlation between CMT, microbiological examination and cytology of expression, the values for the kappa index were: $K = 0.13$, $K = 0.03$ and $K = 0.05$, for CMT, cytology of expression between 50 and 70 % neutrophils and number of neutrophils is above 70%, respectively. It was observed that the number of herd animals, inappropriate grazing, water source of dubious origin, acquisition of animals from neighboring properties, labor, family labor, veterinary assistance and conducting post-dipping, are factors associated with the presence of mastitis infection in dairy goats. In the study of biofilms for analysis, 75 were isolated on plates of biofilm-producing, and 38 had the gene *icaD*. The cultural practices must be taken to an appropriate setting of milk, so as not to compromise the quality of milk, preventing the emergence of resistant microorganisms, and thereby improving the production.

Key-words: mastitis goats, CMT, *Staphylococcus* spp., biofilms, PCR.

1. Introdução

A espécie caprina encontra-se bastante difundida, onde 74% dos rebanhos encontram-se distribuídos nas regiões tropicais e áridas. É considerada uma espécie de expressiva economia, sendo este fato atribuído à sua rusticidade, que lhe proporciona uma melhor adaptação às adversidades do meio, contribuindo para o desenvolvimento das áreas rurais, além de proporcionar renda direta aos criadores pela comercialização de seus diferentes produtos (DUBEUF et al., 2004).

Em determinados países, a caprinocultura leiteira mostra-se mais organizada já que as técnicas e os processos aplicados à matéria-prima promovem sua maior exploração econômica, em função do melhoramento animal. Há, portanto, um mercado crescente para o consumo de derivados de leite caprino com elevado valor agregado (COSTA et al., 2007). No Brasil, a caprinocultura tem crescido de forma significativa. Porém, na região Nordeste (NE), a maior parte da produção visa à subsistência, sendo consumida próximo aos locais de produção (NOGUEIRA, et al., 2008).

A produção leiteira pode ser influenciada por diversos fatores, dentre eles: condições ambientais, escassez de alimentos, idade dos animais e enfermidades. Dentre as enfermidades causadoras de prejuízos econômicos relacionados à produção de leite em todo o mundo, destaca-se a mastite (CASTRO et al., 2001).

A mastite ocorre, na maioria das vezes, como resposta a uma infecção causada por microrganismos. Tal enfermidade é caracterizada por mudanças físicas, químicas e bacteriológicas no leite, provocando também alterações patológicas no úbere. O reconhecimento precoce ligado ao rápido tratamento consiste em importantes medidas para limitar os danos teciduais e as perdas ocasionadas por essa enfermidade (SHEARER; HARRIS, 2003).

Para tentar diminuir os riscos dos animais adquirirem a mastite é necessário que haja a conscientização dos produtores sobre os prejuízos causados por essa enfermidade, a fim de que adotem medidas preventivas e de controle contra a doença, estabelecendo maior renda ao final do período de lactação dos animais (SANTOS, 2009).

Dessa forma, torna-se fundamental o estudo sobre o manejo nas diferentes propriedades de caprinos leiteiros, pois a incidência de mastite causada por

microrganismos produtores de biofilme pode se tornar irreversível, podendo haver perda dos animais e, conseqüentemente, da produção de leite ocasionado prejuízos ao produtor.

2. Revisão de Literatura

2.1. Caprinocultura Leiteira no Brasil

O Brasil possui, de acordo com dados da FAO (2008), um rebanho caprino com cerca de 10 milhões de cabeças e produz anualmente 135 milhões de litros de leite de cabra, sendo o maior produtor do continente americano. Apesar do expressivo efetivo que torna o país detentor do 11º maior rebanho do mundo, a contribuição brasileira para produção de leite de cabra é de apenas 1,38% do leite produzido em todo o mundo (CORDEIRO, 2001).

Durante muitos séculos a caprinocultura foi tida como uma atividade marginal nas fazendas de maior dimensão, onde nem sempre era permitida a sua exploração (LIMA, 2006). Atualmente, a caprinocultura no Brasil é uma atividade realizada majoritariamente por pequenos produtores, pois 68% do rebanho são criados em propriedades com até 100 hectares (IBGE, 2006).

A criação de cabras leiteiras tornou-se uma boa opção para os pequenos produtores. Por se tratar de uma atividade que demanda um trabalho leve e relativamente fácil, admite-se que toda a família faça parte do negócio, sem a necessidade de contratação de mão-de-obra extra. Algumas experiências bem-sucedidas, principalmente no Nordeste e na região serrana fluminense, reúnem associações de pequenos produtores que negociam o leite para laticínios, onde é industrializado (FROTA, 2005).

A criação de caprinos se apresenta como uma das atividades mais viáveis para as condições do semiárido brasileiro onde os índices pluviométricos são baixos e de distribuição irregular. Nos últimos anos a caprinocultura leiteira vem assumindo um importante papel no agronegócio brasileiro, deixando de ser uma atividade de subsistência e passando a ser uma atividade de grande importância

socioeconômica, principalmente para a região Nordeste do Brasil (SOUZA, et. al., 2011).

2.2. Caprinocultura Leiteira no Nordeste

Na região Nordeste do Brasil concentra-se 92% do rebanho caprino brasileiro e, há algum tempo, teve início o Sistema Organizado de Aquisição, Industrialização e Distribuição de Leite com os programas institucionais de governos estaduais. Até 1988, no Brasil não havia comercialização legalizada de leite de cabra, todo comércio era clandestino, quanto aos aspectos sanitários e fiscais (CORDEIRO, 2006).

Segundo dados do IBGE (2006), a criação de caprinos está fortemente concentrada na região Nordeste. No que tange à produção, sabe-se que 67% do leite de cabra são produzidos por agricultores familiares sendo que, no nordeste, essa taxa chega a 73% do total.

Pelo tamanho do rebanho caprino, estimado em 11,2 milhões de animais, e pelas características da região nordeste, a criação de caprinos desponta como uma alternativa econômica e socialmente viável (LIMA, 2006). Dessa forma, as condições favoráveis do nordeste torna a criação destes pequenos ruminantes uma boa alternativa para a geração de renda e garantia de segurança alimentar para a população dessa região, principalmente aquela localizada nas áreas semiáridas (HOLANDA JUNIOR; ARAÚJO, 2004).

No entanto, esta região apresenta um pequeno aproveitamento de seu potencial de produção de leite e seus derivados; isto se deve principalmente ao custo elevado, falta de organização de criadores, aliada à ausência de assistência técnica especializada, além da precariedade do manejo higiênico-sanitário (VIEIRA et al., 1998). Além disso, os problemas sanitários, nutricionais e de manejo, em geral, limitam o potencial produtivo dos animais (VIEIRA, et al., 1998), sendo que um dos principais problemas sanitários é a mastite, considerada um sério problema, seja pela redução na produtividade ou riscos à saúde pública (CONTRERAS et al., 2007).

Dessa forma, há a necessidade de mais programas e incentivos para que se possa alcançar um grande desenvolvimento do setor da caprinocultura leiteira (CORDEIRO, 2006).

2.3. Impacto da Mastite na Caprinocultura Leiteira

A produção de caprinos e ovinos no semiárido é uma atividade relacionada à agricultura familiar, possuindo um forte compromisso com o desenvolvimento regional. No entanto, algumas doenças de ordem sanitária acometem o rebanho leiteiro e comprometem a qualidade do leite acarretando diminuição do potencial produtivo dos animais. Dentre estas doenças, a mastite ocupa lugar de destaque por possuir importância econômica e para a saúde pública. Apesar de ser a doença mais importante em termos econômicos para a indústria leiteira, é difícil de ser controlada (PYORALA, 2002).

A preocupação com a mastite se justifica, pois estima-se no rebanho brasileiro a prevalência de 20 a 38% desta doença o que representaria perda da produção entre 12 a 15%, sendo assim a causa de perda econômica mais significativa na indústria leiteira. Devem ser computados gastos com medicamentos, leite descartado, serviços veterinários, descarte prematuro dos animais e a diminuição do valor comercial dos animais (FONSECA; SANTOS, 2000; REIS et al., 2005).

Vale ressaltar que é de fundamental importância avaliar a qualidade do leite, já que a mesma assume destacada importância sob o ponto de vista da saúde pública. No Brasil, embora não existam estatísticas disponíveis sobre o assunto, são frequentes os casos de doenças associadas ao consumo de leite cru ou de derivados produzidos com leite contaminado com microrganismos patogênicos (FAGUNDES; OLIVEIRA 2004). Contribui para isto, entre outras causas, o fato de mais de 44% do leite consumido no país ser proveniente do mercado informal (ANUÁRIO, 1999), ou seja, comercializado sem qualquer tratamento térmico ou controle laboratorial.

2.4. Aspectos gerais da Mastite

Mastite é a denominação do processo inflamatório da glândula mamária (COSTA, 1998), classificada quanto à forma de apresentação em clínica e subclínica (MENDONÇA et al., 1999) e contagiosa ou ambiental de acordo com o tipo de microrganismo causador da maioria das infecções nos rebanhos (ESSLEMONT; KOSSAIBATI, 2002).

A mastite subclínica apresenta prevalência muito maior que a forma clínica e caracteriza-se por alterações na composição do leite, tais como aumento no número de células somáticas e dos teores de cloro e sódio, além da diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura (FONSECA; SANTOS, 2000). É de difícil detecção, longa duração e 40% precedem a forma clínica (ANDRADE, 2001). É responsável por até 70% das perdas de produção sendo estas, na maioria das vezes, imperceptíveis e necessitam de exames complementares (RIBEIRO et al., 2003).

Já a mastite clínica, segundo Anderson et al. 2004, pode ser considerada de fácil diagnóstico devido às alterações visíveis no leite e no úbere. Nesse tipo de mastite, embora haja o envolvimento dos sinais clínicos característicos da enfermidade, como dor e edema nos quartos afetados, o diagnóstico nem sempre é fácil. Da mesma forma, o diagnóstico da mastite subclínica é bastante complicado e envolve a detecção de células somáticas e o cultivo bacteriano (KLAAS et al., 2004).

Do ponto de vista epidemiológico, a mastite é classificada em contagiosa ou ambiental. A mastite contagiosa caracteriza-se por baixa incidência de casos clínicos e alta incidência de casos subclínicos, geralmente de longa duração ou crônicos e apresentam alta contagem de células somáticas (CCS). Os agentes etiológicos da mastite contagiosa necessitam do animal para a sobrevivência, pois se multiplicam na glândula mamária, canal do teto ou sobre a pele. Desta forma, o principal momento de transmissão ocorre durante a ordenha (SVILAND; WAAGE, 2002).

Já a mastite ambiental é causada por agentes que vivem preferencialmente no hábitat do animal, em locais que apresentam esterco, urina, barro e matéria orgânica (FREITAS et al., 2005). Este tipo de mastite caracteriza-se por alta incidência de casos clínicos, geralmente de curta duração, com manifestação aguda e com maior concentração nos momentos do pré e pós-parto imediato (ERSKINE et al., 1988). Além disso, a infecção ocorre preferencialmente no período entre as

ordenhas, sendo fundamental a higienização do ambiente no qual os animais são criados (COSTA, 1998).

2.5. Gênero *Staphylococcus* x mastite caprina

O gênero *Staphylococcus* reúne diversas espécies e subespécies que se encontram amplamente distribuídas na natureza, sendo encontradas principalmente na pele, membranas e mucosas de aves e mamíferos (KLOOS; BANNERMAN, 1999). Este gênero foi proposto em 1884 por Rosenbach e foi inserido dentro da família Micrococaceae. Recentemente, estudos de biologia molecular, composição da parede celular, perfis de ácidos graxos e, principalmente, estudos com RNA ribossômico 16S promoveram a inclusão do gênero *Staphylococcus* em uma nova família, a Staphylococaceae (GARRITY, 2006). Atualmente, já são 41 espécies descritas dentro deste gênero (BANNERMAN, 2003; EUZÉBY, 2007), sendo a maioria negativa para a presença da coagulase. A síntese dessa enzima – propriedade que caracteriza e identifica as outras espécies do gênero – é restrita ao *S. aureus*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. intermedius*, *S. hycus* e *S. delphini* (BANNERMAN, 2003).

Uma das principais características da mastite diz respeito à diversidade de agentes com potencial patogênico. Os microrganismos são os agentes etiológicos mais comuns das mastites e as bactérias as mais envolvidas (FREITAS et al., 2005). Os principais microrganismos isolados de casos de mastite em pequenos ruminantes no Brasil são os *Staphylococcus* spp. (ALMEIDA 2009, BOLSANELLO et al., 2009) com destaque para os *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) que para outras espécies animais são considerados patógenos menores (CONTRERAS et al., 2007).

Dentre as espécies de SCN mais prevalentes, têm-se os *Staphylococcus epidermidis*, *S. xylosus*, *S. chromogenes* e *S. simulans*, como as espécies com maior frequência de isolamento em ovelhas. Com relação à espécie caprina, pesquisas demonstram maior ocorrência de *S. caprae*. Entre as espécies de SCN, *S. epidermidis* está associada, na maioria das vezes, com elevadas contagens de células somáticas (CCS) em ovelhas e cabras, não sendo o mesmo fato observado para o *S. caprae* (BERGONIER et al., 2003). O isolamento de SCN geralmente está

associado à ausência de sinais clínicos evidentes. Contudo, podem causar infecções persistentes, as quais resultam em maiores CSS, tendo como principal consequência a diminuição da qualidade do leite. Além disso, o surgimento da resistência antimicrobiana é mais comum entre as espécies de SCN, que também podem causar injúrias ao tecido mamário ocasionando queda da produção de leite (TAPONEN; PYORALA, 2009).

O papel dos estafilococos coagulase negativos foi revisto e esses microrganismos, antes considerados contaminantes, agora são causa frequente de mastite, principalmente subclínica (TAPONEN et al., 2007). Todavia, o controle da mastite causada por SCN ainda é complicado (CAPURRO et al., 2009; DSMZ.DE/DSMZ, 2012), sendo causa persistente de inflamação intramamária, que pode persistir durante os meses de lactação, caso não seja feita uma intervenção (GILLESPIE et al., 2009).

Com relação aos *Staphylococcus* coagulase positivos (SCP) o *S. aureus* sempre foi a espécie de maior prevalência e importância clínica relacionada com uma série de infecções e intoxicações nos seres humanos e nos animais. Estes microrganismos destacam-se como os principais causadores de mastites contagiosas de maior importância, maior ocorrência nos rebanhos mundiais e de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antimicrobianos (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004). Vários fatores de virulência são responsáveis pelos sinais clínicos e gravidade das infecções causadas por *S. aureus*. Esses fatores incluem as hemolisinas α , β , γ , δ , a leucocidina e um grupo de superantígenos tóxicos pirogênicos (BANNERMAN, 2003). Alguns trabalhos evidenciam maior incidência de *S. aureus* em rebanhos de cabras leiteiras em contraste com a presença dos SCN. Nestes casos, têm-se quadros mais severos de mastite (AMEH; TARI, 2000).

2.6. Importância dos biofilmes

Os biofilmes são constituídos de bactérias, onde estas estão aderidas a uma superfície qualquer, que por sua vez são envolvidas por uma matriz de polímeros orgânicos, ou seja, são depósitos onde os microrganismos estão fortemente

aderidos a uma superfície por meio de filamentos de natureza protéica ou polissacarídica, denominados glicocálice (COSTERTON et al., 1999).

Estas estruturas contêm partículas de proteínas, lipídeos, fosfolipídeos, carboidratos, sais minerais e vitaminas, que formam uma espécie de crosta, debaixo das quais os microrganismos continuam a se multiplicar, seja em cultivo puro ou em associação com outros microrganismos. Dessa forma, nos biofilmes os microrganismos encontram-se mais resistentes à ação de agentes físicos e químicos como os utilizados nos procedimentos de higienização (MARQUES, 2005).

Existem várias razões pelas quais uma bactéria decide crescer em modo biofilme sendo estas resumidas a: defesa, colonização do ambiente e crescimento em comunidade (JEFFERSON, 2004). Entretanto, acredita-se que as modificações ambientais são os principais fatores contribuintes para o acionamento dos processos de formação do biofilme (APARNA; SARITA, 2008).

Os biofilmes têm papel fundamental nas infecções bacterianas. A cronicidade e resistência a agentes antimicrobianos de determinadas infecções estão intimamente ligadas à presença de biofilmes. De fato, o biofilme é considerado um fator de virulência importante sendo observado em algumas bactérias como, por exemplo, *Staphylococcus* spp. (JAIN; AGARWAL, 2009).

A capacidade que os biofilmes têm de proporcionar proteção aos microrganismos vem trazendo grandes preocupações à clínica médica e veterinária. Segundo Olson et al., (2002) a prevalência de mastite estafilocócica bovina vai de 7 a 40% de todo o gado leiteiro onde tal infecção está diretamente relacionada com a produção de biofilme bacteriano. Ainda segundo o autor, duas espécies bacterianas patogênicas consideradas como as mais isoladas em casos de infecções em animais são *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* produtores de biofilmes. Estudos realizados por Melchior et al., (2009) mostram que a divisão de cepas de *S. aureus* causadoras de mastite bovina e penicilina resistentes ou sensíveis dependem, além de outros fatores, de um íntimo relacionamento com a habilidade de formar biofilmes. Essa informação é essencial, pois alerta que a estratégia de utilização de antibióticos no combate apenas de infecções bacterianas pode não ser a mais apropriada e eficiente precisando, talvez, ser repensada.

A proliferação das células para aderir e formar biofilme é mediada pela produção do polissacarídeo capsular adesina (PS/A), um antígeno capsular que faz com que a bactéria tenha aderência na superfície. A síntese do polissacarídeo

capsular-PS/A é mediada por um operon *ica* que uma vez ativado, um polissacarídeo de adesão intercelular-PIA é sintetizado (BERNARDI, 2005).

Um dos componentes genéticos mais estudados e utilizados para identificação de *Staphylococcus* produtores de biofilme é o locus *ica*. Este locus é um conjunto de quatro genes organizados em um operon (*icaADBC*) que, como mencionado anteriormente, é responsável pela expressão de uma adesina intercelular polissacarídica (PIA) ou de N-acetilglicosamina polimérica (PNAG) e a co-expressão dos genes *icaA* e *icaD* é fundamental para a síntese completa do muco. O locus *ica* é o componente genético melhor compreendido na síntese de biofilmes de *Staphylococcus* spp. e está presente na maioria dos isolados clínicos humanos e de mastite bovina (O' GARA, 2007).

2.7. Métodos de Diagnóstico da Mastite

Diferentes métodos podem ser utilizados para o diagnóstico da mastite sendo estes classificados como diretos e indiretos. Os exames diretos baseiam-se na identificação do agente etiológico mediante a demonstração da presença de microrganismos nas amostras de leite encaminhadas aos laboratórios. Por outro lado, os testes indiretos fundamentam-se em vários critérios de evolução de intensidade da reação inflamatória (MOTA, 2008).

O aumento na CCS é a principal característica utilizada para o diagnóstico da mastite subclínica. Dessa forma, existem vários testes que avaliam o teor de células somáticas do leite, e entre esses testes destacam-se o CMT (*Califórnia Mastitis Test*), o WMT (*Wisconsin Mastitis Test*) e a contagem eletrônica de células somáticas (CECS) (SCHRODER; HAMMAN, 2005). SILVA, et al., (2001), ao estudar a correlação entre o CMT e a contagem de células somáticas de leite de cabras, observaram correlação positiva e significativa entre esses testes.

É importante ressaltar que a contagem de células somáticas constitui a base das técnicas de diagnóstico indireto das mastites em todas as espécies de ruminantes leiteiros (MOTA, 2008). As maiores diferenças encontradas entre caprinos e ovinos que comprometem o diagnóstico da mastite são relacionadas a CCS. Estas diferenças ocorrem, principalmente, em virtude da elevada CCS em

cabras não infectadas, o alto componente apócrino na secreção do leite e o elevado número de fatores não infecciosos que podem aumentar a contagem de células somáticas em cabras quando comparado com ovelhas (PAAPE et al. 2001). Estudos acerca da correlação entre técnicas diagnósticas utilizadas para detecção da mastite são imprescindíveis, especialmente na espécie caprina devido às particularidades encontradas na fisiologia da glândula mamária nesta espécie (PEIXOTO, et al., 2010).

O CMT é a melhor técnica para detecção da mastite subclínica em ovinos a campo (CLEMENTS et al., 2003). Além deste, outros testes como a microscopia direta com azul de metileno (citologia de expressão) e o diagnóstico bacteriológico são considerados técnicas simples, todavia, exigem pessoal treinado para coleta das amostras e laboratório para a contagem de células somáticas e identificação dos agentes etiológicos (BUSWELL, 1995).

2.7.1. *California Mastitis Test (CMT)*

Dentre os vários métodos que podem ser empregados no diagnóstico da mastite, o CMT tem a vantagem de ser empregado no próprio rebanho, no momento em que os animais são ordenhados e a sua interpretação baseia-se na observação visual da mistura do leite com o reagente. A reação se processa entre o reagente e o material genético das células somáticas presentes no leite, formando um gel cuja concentração é proporcional ao número de células somáticas. O resultado do CMT é dado como negativo, suspeito, fracamente positivo e fortemente positivo (BRITO et al., 2002).

Devido a sua fácil execução e interpretação, baixo custo e por permitir um resultado satisfatório acerca da situação da mastite em rebanhos leiteiros (MOTA 2008), o CMT tem sido foco de muitos estudos, nos quais o principal objetivo é o de determinar o escore que melhor reflita a quantidade de células somáticas existentes no leite e, conseqüentemente, o estado sanitário da glândula mamária caprina (CONTRERAS et al., 1996; WINTER et al., 1999). Pelo fato de o leite de cabra apresentar um maior número de células somáticas, estudos apontam uma maior confiabilidade do CMT quanto à sua sensibilidade a partir do nível de 2+. Os escores

(traços e 1+) devem ser interpretados como negativos (CONTRERAS et al., 1996; BEZERRA et al., 2006; ALMEIDA, 2009). No entanto, a concordância entre o escore “traços” e a positividade na lactocultura em algumas situações, mostra a importância de se considerar qualquer grau de reatividade ao CMT, principalmente quando se pretende realizar a triagem de casos de mastite subclínica em cabras (TONIN; NADER FILHO, 2005).

2.7.2. Citologia de Expressão

Segundo Pedersen et al., (2003) quando um agente patogênico invade a glândula mamária, o organismo do animal reage, enviando para o local células de defesa, principalmente leucócitos, a maioria neutrófilos polimorfonucleares, para tentar reverter o processo infeccioso. Essas células de defesa somadas as células de descamação do epitélio secretor são chamadas células somáticas (RUPP et al., 2000).

Os constituintes celulares do leite têm recebido atenção especial ao longo das pesquisas voltadas para a mastite. A interpretação geralmente tem sido feita com base no número total de células somáticas, onde os neutrófilos são as células predominantes no leite mastítico, seguidos por linfócitos, células epiteliais e monócitos (DHAKAL et al., 1992).

A técnica de citologia de expressão (ou microscopia direta com azul de metileno) constitui o método padrão para contagem de células somáticas (IDF, 1995), embora possa superestimar a CCS em leite de cabra (PAAPE et al., 2001). A microscopia direta, padronizada por Prescott & Breed (1910), serve como método de controle dos contadores eletrônicos (ZENG, 1996). A contagem microscópica direta tem sido preconizada como um dos métodos mais confiáveis para a determinação do número de células somáticas no leite caprino (ZENG et. al., 1999). Além disso, a contagem de células somáticas, em geral, é considerada uma boa ferramenta para monitorar a qualidade do leite de ovelhas e cabras, no entanto, é indispensável o estabelecimento de critérios para estas duas espécies. Além disso, novos estudos são necessários, visando considerar fatores que podem interferir nessa contagem e

que são distintos daqueles que influenciam o mesmo parâmetro no leite de vacas (RAYNAL-LJUTOVAC et al., 2007).

2.7.3. Cultura Bacteriológica

A cultura bacteriológica do leite é considerada o teste padrão ouro para o diagnóstico das infecções intramamárias em espécies leiteiras. Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos visando alcançar maiores taxas de recuperação de patógenos em amostras de leite contaminadas (CONTRERAS et al., 2007). Devido ao tipo de secreção apócrina da glândula mamária caprina, a lactocultura é o método mais indicado para o diagnóstico da mastite subclínica em cabras leiteiras, apesar de também ser o mais oneroso (BIANCHINI et al., 2010).

Com relação à influência do tempo de coleta no diagnóstico bacteriológico, Sánchez et al., (2004) observaram que a especificidade da lactocultura realizada após a ordenha foi de 99,4%, 99,9%, 100%, 99,9% e 100% para o isolamento de SCN, bacilos gram-negativos, *Streptococcus* spp., corinebactérias e culturas mistas respectivamente, sendo sugerido que a coleta de amostras de leite após a ordenha pode ser um procedimento eficiente para o diagnóstico de infecções intramamárias.

2.8. Estratégias de Controle e Prevenção

A higiene durante a ordenha constitui a base para o sucesso de um programa de controle das mastites em pequenos ruminantes (ERSKINE et al., 1993). A higienização prévia dos tetos previne doenças como a mastite, sendo de grande importância para reduzir o número de microrganismos patogênicos no leite e melhorar as condições higiênicas do mesmo (NADER FILHO et al., 1982).

Diversas medidas sanitárias devem ser adotadas durante o processo de ordenha para minimizar a transmissão de agentes causadores de mastites que podem ser transferidos ao leite depreciando sua qualidade microbiológica. Dentre elas, o bom funcionamento da sala de ordenha é obrigatório para se medir o nível de

eficiência e qualidade, devendo ser limpa e arejada, e desinfetada uma vez por semana (SANTOS, et al., 2004).

Vale ressaltar também a importância de se estabelecer a "linha de ordenha", ou seja, cabras com infecções, principalmente mastite, devem ser ordenhadas por último, para não contaminarem animais sadios (PEELER et al., 2003). Indica-se que seja feita, antes da ordenha, a lavagem completa das mãos dos ordenadores, retirada dos três ou quatro primeiros jatos em uma "caneca de fundo preto", com objetivo de diagnosticar a mastite clínica e estimular a descida do leite (SANTOS et al., 2004), realização de pré e pós-dipping para reduzir o número de novas infecções (DINGWELL et al., 2004) e, como objetivo principal no manejo de ordenha, deve-se assegurar que os tetos estejam limpos e secos antes do seu início (SANTOS et al., 2004).

Além disso, a desinfecção dos tetos após a ordenha tem sido usada, principalmente, em rebanhos altamente infectados (BERGONIER; BERTHELOT 2003, CONTRERAS et al., 2003), e esta tem se revelado como método muito eficaz para prevenir a mastite em pequenos ruminantes.

Deve-se, portanto, ficar atento à ordenhadeira, à mão do ordenhador e à lesões nos tetos, pois estes são considerados fatores importantes que expõem a superfície dos tetos aos microrganismos (AMARAL et al., 2004).

Ao mesmo tempo, outra estratégia de prevenção da mastite é a suplementação com vitamina E onde esta é importante para a manutenção de alguns dos principais mecanismos de defesa animal, incluindo a produção de anticorpos, a proliferação celular, a produção de citocinas, o metabolismo da prostaglandina e as funções dos neutrófilos (HOGAN et al., 1993). Paes et al., (2003) evidenciou que a CCS e o número de *Staphylococcus aureus* são menores em caprinos suplementados com vitamina E.

Assim sendo, é fundamental aplicar técnicas de prevenção e controle para evitar maiores perdas econômicas, já que o prejuízo acarretado pela mastite constitui cerca de 25% de todas as doenças de importância econômica. Ao mesmo tempo, a mastite clínica representa 18% do prejuízo total por causar morte ou descarte prematuro e, ainda, a redução na produção total é representada principalmente pela mastite subclínica (82%). Além disso, tal doença compromete a qualidade do leite por determinar alterações na sua composição, devido à diminuição na gordura, lactose, caseína, cálcio e fósforo (BUSATO et al., 2000) .

3 – Artigo 1

Perfil produtivo e sanitário associados à mastite subclínica de propriedades de caprinos leiteiros no sertão de Pernambuco

Marielly Bastos Cavalcante¹, Mateus Matiuzzi da Costa².

¹Aluna do programa de Pós-graduação em Ciência Animal

²Professor adjunto, Colegiado de Zootecnia, UNIVASF

Resumo

Objetivou-se com esse estudo verificar a prevalência e os fatores de risco associados à mastite subclínica, o estado sanitário e o perfil produtivo de cabras leiteiras criadas no sertão de Pernambuco. Foram visitadas 16 propriedades, totalizando 269 cabras em lactação e 538 metades mamárias. Para o estudo do perfil produtivo e sanitário foram aplicados questionários com perguntas referentes ao manejo dos rebanhos. Para avaliação da ocorrência de mastite, foi realizado o teste de CMT de amostras de leite coletadas após prévia antissepsia dos tetos, sendo que a positividade para a mastite subclínica foi considerada a partir do escore $\geq 2+$. A partir dos questionários aplicados, foi observado que o número de animais do rebanho, pasto inadequado, fonte de água de origem duvidosa, aquisição de animais de propriedades vizinhas, mão-de-obra familiar, assistência veterinária e realização de pós-dipping são considerados fatores de risco para a mastite em cabras leiteiras. Também foi observada que a distribuição da mastite entre as propriedades visitadas foi alta, sendo que aquelas com baixa produção leiteira também apresentaram baixa ocorrência de mastite. Das 538 amostras de leite analisadas, 66 foram consideradas positivas no CMT, sendo estas distribuídas entre 15 propriedades, onde apenas uma propriedade não apresentou animais positivos para o teste. Com os resultados obtidos observa-se que os problemas com mastite ou com baixa produção de leite podem ser decorrentes de negligência no manejo realizado, pois a maioria dos produtores tinha curso de capacitação na atividade. Assim, é necessário praticar o manejo corretamente para que, dessa forma, seja possível elevar as taxas de produtividade do rebanho.

Palavras-chave: mastite, pequenos ruminantes, produção, sanidade.

Abstract

The objective of this study investigated the prevalence and risk factors associated with subclinical mastitis, the health and productive profile of dairy goats raised in the backwoods of Pernambuco. We visited 16 properties, totaling 269 goats and 538 lactating mammary gland. To study the production profile and health questionnaires were filled with questions regarding herd management. To evaluate the incidence of mastitis test was performed for CMT from milk samples collected after previous teat antiseptics, and the positivity for subclinical mastitis was considered from the score $\geq 2+$. From the questionnaires, it was observed that the number of herd animals, inappropriate grazing, water source of dubious origin, purchase of animals from neighboring properties, labor, family labor, veterinary assistance and conducting post-dipping are considered risk factors for mastitis in dairy goats. It was also observed that the distribution of mastitis among the farms visited was high, and those with low milk production also showed a low incidence of mastitis. Of the 538 milk samples analyzed, 66 were positive in the CMT, which were distributed among 15 properties, where only one property had no positive animals for testing. With these results it is observed that the problems with mastitis or low milk production may be caused by negligence in the management carried out, since most producers had ongoing training in the activity. Thus, it is necessary to practice properly for the management, thus it is possible to raise rates of productivity of the herd.

Key-words: mastitis, small ruminants, production, health.

1. Introdução

Uma das atividades agropecuárias que se destacam no semiárido nordestino é a criação de caprinos que, desde o início da civilização é uma atividade que está ligada ao homem, pois, fornecendo leite, carne e peles, ajudou na fixação dos primeiros núcleos de assentamentos (CORDEIRO e CORDEIRO, 2008).

Na região Nordeste encontra-se 92% do rebanho caprino nacional (FAO, 2008), participando com, aproximadamente, 14.201 mil litros (66,74%) da produção nacional de leite de cabras, que é de 21.775 mil litros (IBGE, 2006).

Apesar dos países em desenvolvimento apresentarem os maiores rebanhos, é observado que eles não são os que lideram na industrialização e comercialização de laticínios derivados da exploração caprina (CORDEIRO, 2006). Isso pode acontecer pelo fato de a caprinocultura ser severamente afetada por inúmeros fatores, entre eles, a alta incidência de problemas sanitários. A criação de caprinos nas regiões semiáridas brasileiras é caracterizada por práticas de manejo inadequadas, relacionadas principalmente aos aspectos sanitários, o que interfere na produtividade do rebanho (OLIVEIRA et. al., 1995).

Segundo Pinheiro et. al., (2000), o que limita a criação empresarial de caprinos no nordeste são a alta incidência de problemas sanitários, aliados às práticas inadequadas de manejo, falta de pastagem cultivada e crédito rural, onde estes fatores representam parcela considerável das perdas em animais, com grande repercussão econômica.

A falta de controle profilático das principais doenças, em conjunto com a deficiência nutricional, a qual diminui a resistência dos animais, é responsável pelo baixo desempenho produtivo e reprodutivo, além disso, na maior parte das pequenas explorações, o rebanho é criado solto, não havendo instalações que permitam manejo adequado. Esta limitação resulta em falta de acompanhamento e perda de desempenho (CRUZ et. al., 2009).

Uma das principais doenças de ordem sanitária que acometem o rebanho leiteiro comprometendo a qualidade do leite e acarretando diminuição do potencial produtivo dos animais é a mastite (PYORALA, 2002). A mastite é considerada como uma doença que causa um grande impacto nas áreas econômica, social e de saúde pública (CONTRERAS & RODRÍGUEZ, 2011). O diagnóstico da mastite subclínica

em cabras é controverso e dessa forma várias técnicas têm sido estudadas, sendo as mais aceitas o *California Mastitis Test* (CMT), pela facilidade de uso a campo e a contagem de células somáticas (CCS), em razão de sua sensibilidade e especificidade (CONTRERAS et al. 1996).

SANTOS & FONSECA (2006) destacam que, do ponto de vista epidemiológico, a maior incidência de casos de mastite causada por agentes contagiosos no rebanho indica falhas no sistema de ordenha, período em que geralmente ocorre a transmissão desses agentes durante a ordenha manual ou mecânica. Ainda de acordo com esses autores, os principais métodos indicados para o controle da doença seriam a diminuição da exposição dos animais aos agentes (manejo de ordenha, treinamento dos ordenhadores, desinfecção das teteiras, desinfecção da superfície dos tetos), aumento da resistência imunológica das fêmeas e antibioticoterapia.

Considerando-se a importância do manejo dos animais produtores de leite e os cuidados necessários na obtenção deste produto, objetivou-se verificar a prevalência e os fatores de riscos associados à mastite subclínica, o estado sanitário e o perfil produtivo de rebanhos de caprinos leiteiros localizados em propriedades do sertão de Pernambuco.

2. Material e métodos

2.1. Local e animais do estudo

As propriedades consideradas nesse estudo foram aquelas cujo rebanho é voltado para a produção leiteira, onde os animais são ordenhados regularmente e o leite utilizado para consumo e/ou comercializado.

As visitas foram realizadas no período de abril de 2011 a maio de 2012. Na investigação, foram utilizados questionários (Anexo) constituídos por perguntas fechadas, que foram aplicados visando conhecer características da exploração (produção, aspectos sanitários e zootécnicos) em 16 propriedades distribuídas entre as cidades de Petrolina-PE e Santa Maria da Boa Vista – PE.

2.2. California Mastitis Test (CMT) e Exame Microbiológico

Para detecção da mastite subclínica foi realizado o teste de CMT conforme descrições de Schalm & Noorlander (1957). O teste foi realizado após a lavagem dos tetos e antissepsia com álcool 70%, sendo que os três primeiros jatos foram desprezados. O CMT foi realizado a partir do leite de 269 animais, totalizando 538 amostras.

Para fazer a análise do CMT o leite foi misturado ao reativo, que é uma mistura de detergente e púrpura de bromocresol que, ao reagir com o material genético das células somáticas, forma um gel, cuja concentração é proporcional ao número de células somáticas eliminadas pelo animal. A positividade foi considerada a partir do escore $\geq 2+$.

Para avaliar os fatores de risco associados à mastite subclínica, foi realizado o exame microbiológico, onde amostras de leite, após antissepsia dos tetos com álcool 70%, foram coletadas e levadas ao laboratório para o isolamento de microorganismos envolvidos na enfermidade, sendo que as amostras consideradas positivas para a mastite foram aquelas que apresentaram o crescimento de uma colônia hemolítica e/ou aquelas que continham quatro colônias não hemolíticas ou mais com as mesmas características morfológicas

2.3. Análise estatística

Para a identificação dos fatores de risco associados à mastite foi realizada uma análise estatística univariada para aquelas variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, quando necessário. Posteriormente aplicou-se uma análise multivariada através do modelo de regressão logística considerando como variável dependente o exame microbiológico (positivo ou negativo). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância $< 0,20$. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não sejam excluídos da

análise (HOSMER E LEMESHOW, 1989). O programa Epiinfo versão 3.5.1 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

3. Resultados

Com base nos 16 questionários aplicados, foi determinado o perfil de criação das propriedades avaliadas (Tabelas 1, 2 e 3).

Tabela 1. Caracterização dos estabelecimentos rurais de propriedades localizadas nos municípios de Petrolina-PE e Santa Maria da Boa Vista-PE, 2011/2012.

	Especificações das variáveis	Valores (%)
Área total da fazenda	Até 50 hectares	10 (62,5%)
	De 50 a 100 hectares	2 (12,5%)
	Acima de 100 hectares	4 (25%)
Finalidade da produção	Apenas leite	6 (37,5%)
	Carne e leite	10 (62,5%)
Tipo de criação	Intensivo	-
	Semiextensivo	10 (62,5%)
	Extensivo	6 (37,5%)
Mao de obra	Familiar	12 (75%)
	Empregados com salário	4 (25%)
Grau de escolaridade	Primário: completo	2 (12,5%)
		incompleto
	Secundário: completo	1 (6,25%)
		incompleto
	Profissionalizante	1 (6,25%)
	Superior	4 (25%)
	Não estudou	1 (6,25%)
Capacitação	Sim	15 (93,75%)
	Não	1 (6,25%)
Identificação dos animais	Sim	15 (93,75%)
	Não	1 (6,25%)
Dispõe de serviço veterinário	Sim	12 (75%)
	Não	4 (25%)

Quando questionados sobre as principais características da propriedade os resultados mostraram que 62,5% apresentaram propriedades com até 50 hectares, 12,5% têm propriedades entre 50 e 100 hectares, e 25% têm propriedades acima de 100 hectares, caracterizando-as, em sua maioria, como pequenas propriedades.

Com relação à finalidade de produção, apesar desse estudo considerar apenas propriedades voltadas para a caprinocultura leiteira, 62,5% delas tinha como finalidade a produção de carne e leite.

O principal regime de criação adotado é o semiextensivo em 62,5% das propriedades entrevistadas, contra 37,5% que adotam o sistema extensivo. Nenhuma propriedade adota o sistema intensivo de produção.

Quando entrevistados sobre a mão de obra empregada na propriedade, a maioria dos entrevistados afirmou que usa mão de obra familiar e apenas 25% têm empregados com salário.

Quanto ao grau de escolaridade do caprinocultor, 93,75% possuem algum estudo, sendo que 43,75% estudaram até o primeiro grau, 18,75% até o segundo grau, 6,25% tiveram ensino profissionalizante e 25% tem ensino superior.

Já com relação à capacitação, foi constatado que 93,75% das propriedades tem tratadores com capacitação na atividade e apenas 6,25% não tem. Além disso, das 16 propriedades visitadas, 15 delas têm seus animais identificados.

A tabela 2 mostra os resultados sobre os principais aspectos relacionados ao manejo sanitário das propriedades visitadas nas cidades de Petrolina-PE e Santa Maria da Boa Vista - PE.

Tabela 2. Caracterização dos aspectos relacionados ao manejo sanitário de propriedades localizadas nos municípios de Petrolina-PE e Santa Maria da Boa Vista-PE, 2011/2012.

	Especificações das variáveis	Valores (%)
Quarentenário	Sim	7 (43,75%)
	Não	9 (56,25%)
Limpeza das instalações	Sim diário	3 (18,75%)
	semanal	12 (75%)
	mensal	1 (6,25%)
	anual	-
	Não limpa	-
Vermifugação	Sim estratégica	7 (43,75%)
	tática	4 (25%)
	supressiva	2 (12,5%)
	curativa	3 (18,75%)
	Não	-
Uso de vacinas	Sim raramente	2 (12,5%)
	1 vez nos últimos 5 anos	2 (12,5%)
	todos os anos	4 (25%)
	Nunca	8 (50%)
Frequência de doenças	Conjuntivite	12 (75%)
	Pneumonia	10 (62,5%)
	Diarreia	15 (93,75%)
	Helmintoses	16 (100%)
	Mal do caroço	16 (100%)
	Mastite	14 (87,5%)
	Pododermatite	10 (62,5%)
	Boqueira	8 (50%)
Aborto	14 (87,5%)	

Os resultados para o manejo sanitário mostraram que a prática do quarentenário é realizada em 43,75% das propriedades e que todos os proprietários

fazem a limpeza das instalações, no entanto, a maioria faz esse manejo apenas semanalmente.

Foi observado também que metade (50%) das propriedades não faz uso de vacinas e, quanto à incidência de doenças nos rebanhos estudados, verificou-se que os maiores problemas enfrentados pelos produtores consistem na linfadenite (mal do caroço) e helmintoses, ainda que aconteçam apenas às vezes.

No que diz respeito à obtenção higiênico sanitária do leite, os resultados são mostrados na tabela 3.

Tabela 3. Caracterização sobre a obtenção higiênico sanitária do leite de propriedades localizadas em Petrolina-PE e Santa Maria da Boa Vista-PE.

	Especificações das variáveis		Valores (%)
Tipo de ordenha	Manual		16 (100%)
	Mecânica		-
Local de ordenha	Sala de ordenha		9 (56,25%)
	Curral		7 (43,75%)
Higiene dos animais e manejo da ordenha	Lavagem dos tetos	sim	11 (68,75%)
		não	5 (31,25%)
	Secagem dos tetos	pano	-
		toalha de papel	11 (68,75%)
	Uso de caneca telada	sim	9 (56,25%)
		não	7 (43,75%)
	Uso de pré-dipping	sim	7 (43,75%)
		não	9 (56,25%)
	Uso de pós-dipping	sim	8 (50%)
		não	9 (56,25%)

Foi observado que em todas as propriedades a ordenha é feita manualmente onde 43,75% ordenham as cabras no próprio curral e 56,25% possuem sala de

ordenha para essa prática, porém quando questionados sobre a higiene antes e após as ordenhas, foi observado que todos os proprietários fazem algum tipo de higienização, entre lavagem dos tetos, utilização de toalhas para secagem uso de caneca telada e realização de pré-dipping e pós-dipping.

Observou-se também que a produção de leite nas propriedades é baixa, sendo que a maior produção é de 33 litros/dia, havendo propriedades que produziam apenas 4 litros/dia. As propriedades que apresentavam menores produções (entre 4 e 8 litros/dia) foram as que menos tiveram incidência de mastite.

Após as entrevistas, foi realizado o teste de CMT onde os resultados revelaram que das 538 amostras, 126 (23,4%) foram consideradas positivas para o teste. Para cinco animais não foi realizado esse teste, pois os mesmos apresentavam mastite clínica. Levando-se em consideração a positividade para a mastite subclínica a partir do escore 2+ ou 3+, das 126 amostras positivas no CMT, 66 (52,4%) foram positivas para os escores 2+ ou 3+, caracterizando animais positivos para a enfermidade (tabela 4).

Tabela 4. Frequências absoluta e relativa das amostras positivas para o *California Mastitis Test* (CMT) obtidas de cabras leiteiras em Pernambuco, 2011/2012.

Escore	Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Negativo	412	76,6
+	60	11,2
++	52	9,7
+++	14	2,6
Total	538	100,00

Das amostras de leite avaliadas em laboratório, 90 (16,7%) foram positivas para o crescimento microbiano. Os resultados são mostrados na tabela 5.

Tabela 5. Frequências absoluta e relativa do exame microbiológico obtido a partir de leite de cabras em Pernambuco, 2011/2012.

Microbiológico	Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Positivo	90	16,7
Negativo	448	83,3
Total	538	100,00

Com relação aos fatores de risco, observou-se que para a variável quantidade de cabeças, houve associação estatística significativa ($p < 0,05$) onde a frequência de positividade no exame microbiológico do leite foi de 32,1% para propriedades contendo entre 50 e 100 animais e de 12,9% e 12,3% para aquelas de propriedades com menos de 50 animais e com mais de 100, respectivamente. Porém, para as variáveis tipo de produção, nível da produção e raça, não foi observada associação estatística significativa ($p > 0,05$).

Quanto ao tipo de pasto e a fonte de água das propriedades, observou-se associação estatística significativa ($p < 0,05$), obtendo-se maior positividade em propriedades cujo pasto era à base de planta capim e a água proveniente de companhias de abastecimento, com frequências de 20,6% e 27,5%, de animais positivos, respectivamente.

Quanto à frequência de limpeza das instalações, observou-se maior positividade nas propriedades cuja prática era realizada semanalmente (17,2%) quando comparadas com aquelas que realizavam essa prática diariamente (15,0%) e mensalmente (15,4%), sendo observada associação estatística significativa ($p < 0,05$).

Com relação às variáveis: origem dos animais, realização de quarentena, produção de borregos, empregados na propriedade e assistência veterinária, foi observado que houve significância estatística para estas cinco variáveis, onde as maiores frequências observadas foram: animais originários de outros estados (32,5%), não realização de quarentena (20,5%), produção de apenas um borrego por fêmea/ano (21,5%), empregados contratados (23,6%) e falta de assistência veterinária (25,0%). Todos esses dados são mostrados na tabela 6.

Tabela 6. Fatores de riscos associados ou não a mastite para cabras leiteiras criadas em Pernambuco, 2011/2012.

VARIÁVEL	N	Exame microbiológico Positivo	ANÁLISE	P
			UNIVARIADA OR (I.C. 95%)	
Quantidade de cabeças				
<50	280	36 (12,9%)	1	0,000*
Entre 50 e 100	112	36 (32,1%)	3,21 (1,82 - 5,63)	
> 100	146	18 (12,3%)	0,30 (0,15 - 0,58)	
Tipo de produção				
Leite	214	37 (17,3%)	1,06 (0,65 - 1,73)	0,432
Mista	324	53 (16,4%)		
Nível da produção (litros)^a				
<1000	80	9 (11,3%)	1	0,445
Entre 1000 e 3000	204	33 (16,2%)	1,52 (0,67 - 3,80)	
>3000	208	36 (17,3%)	1,08 (0,63 - 1,89)	
Raça				
Pura	340	54 (15,9%)	1	0,788
SRD	138	25 (18,1%)	1,17 (0,66 - 2,02)	
Mestiça	60	11 (18,3%)	1,01 (0,42 - 2,34)	
Tipo de Pasto				
Nativo	100	16 (16,0%)	1	0,004*
Planta capim	310	64 (20,6%)	1,37 (0,73 - 2,67)	
Nativo e planta capim	128	10 (7,8%)	0,33 (0,14 - 0,67)	
Fonte de água				
Açude	220	33 (15,0%)	1	0,019*
Companhia de abastecimento	80	22 (27,5%)	2,15 (1,10 - 4,13)	
Outra	238	35 (14,7%)	0,45 (0,24 - 0,88)	
Limpeza das instalações				
Diário	100	15 (15,0%)	1	0,850
Semanal	412	71 (17,2%)	1,18 (0,63 - 2,33)	
Mensal	26	4 (15,4%)	0,87 (0,21 - 2,68)	
Origem dos animais adquiridos				
Propriedades vizinhas	204	37 (18,1%)	1	0,000*
Outras propriedades	90	9 (10,0%)	0,50 (0,20 - 1,13)	
Feiras ou exposições	164	18 (11,0%)	1,11 (0,45 - 2,94)	
Outro estado	80	26 (32,5%)	3,91 (1,88 - 8,17)	

Realiza quarentena ou exames antes de introduzir os animais				
Quarentena e exame	106	14 (13,2%)	1	
Quarentena	134	15 (11,2%)	0,83 (0,35 – 1,96)	0,032*
Não realiza	298	61 (20,5%)	2,04 (1,09 – 4,03)	
Quantos borregos produziu no último ano				
1	312	67 (21,5%)		
2	226	23 (10,2%)	2,41 (1,42 – 4,20)	0,000*
Empregados na propriedade				
Familiares	428	64 (15,0%)		
Contratados	110	26 (23,6%)	0,56 (0,33 – 0,99)	0,023*
Assistência Veterinária				
Sim	434	64 (14,75)		
Não	104	26 (25,0%)	0,52 (0,30 – 0,91)	0,017*

*Associação significativa a 5%

No que diz respeito aos fatores de risco relacionados ao manejo na ordenha, foi observada significância estatística apenas para a variável uso de pós-dipping, com frequência de 19,6% contra 14,4% para aqueles que não realizam esse manejo (tabela 7).

Tabela 7. Fatores de riscos (ligados ao manejo na ordenha) associados ou não a mastite para cabras leiteiras criadas em Pernambuco, 2011/2012.

VARIÁVEL	N	Exame microbiológico Positivo	ANÁLISE UNIVARIADA	
			OR (I.C. 95%)	P
Número de ordenhas				
Uma	498	83 (16,7%)	0,94 (0,39 – 2,61)	0,516
Duas	40	7 (17,5%)		
Local de ordenha				
Sala de ordenha	300	50 (16,7%)	0,99 (0,61 – 1,60)	0,527
Curral	238	40 (16,8%)		
Uso da caneca telada				
Sim	300	56 (18,7%)	1,37 (0,84 – 2,26)	0,107
Não	238	34 (14,3%)		
Realiza pré-dipping				
Sim	220	40 (18,2%)	1,19 (0,73 – 1,92)	0,262
Não	318	50 (15,7%)		
Realiza pós-dipping				
Sim	240	47 (19,6%)	1,44 (0,89 – 2,33)	0,070*
Não	298	43 (14,4%)		
Lavagem dos tetos				
Sim	360	59 (16,4%)	0,92 (0,56 – 1,55)	0,426
Não	178	31 (17,4%)		
Secagem do úbere				
Papel	360	59 (16,4%)	0,92 (0,56 – 1,51)	0,426
Não realiza	178	31 (17,4%)		

4. Discussão

Sabe-se que a caprinocultura no nordeste é, em sua maioria, voltada para a subsistência, o que leva os produtores a associarem a produção leiteira com outra produção bastante comum nas propriedades, que é a produção de carne. Isso talvez aconteça porque a caprinocultura leiteira ainda é pouco difundida e por isso os produtores procuram associar a produção de leite com outro tipo de produção para auxiliar na sua subsistência.

O principal regime de criação das propriedades visitadas é o semiextensivo. Silva, et. al, (2004) e Lopes et. al., (2008) observaram que o principal regime de criação adotado é o extensivo com 83,3% e 78,5% respectivamente, contra 16,7% e

21,4% que adotam o sistema semiextensivo em propriedades de caprinos leiteiros localizadas nas microrregiões do sertão paraibano e de Mossoró-RN, respectivamente. Isto evidencia que o Nordeste do Brasil ainda mantém determinados padrões rudimentares no que diz respeito à criação de pequenos ruminantes, refletindo na baixa produtividade dos mesmos (SILVA et. al., 2011).

Com relação ao uso de mão-de-obra familiar ou contratada, a maioria trabalha com o pessoal da família. Segundo Gomes, (1997), a sustentação dos sistemas de produção, que atuam com baixa produção, é facilitada quando a mão-de-obra é familiar, incluindo-se aí a mulher e os filhos menores, onde as oportunidades no mercado de trabalho são limitadas.

A maioria dos proprietários entrevistados tem apenas o primário como grau de escolaridade. Esses resultados corroboram em parte com os encontrados por Lopes et. al, (2008) em Mossoró-RN, onde os valores para ensino até o primeiro e segundo grau de escolaridade mostrou que 46,4% estudaram até o 1º grau e 21,4% tem o 2º grau.

Silva et. al., (2004) no sertão paraibano, também obteve resultados semelhantes, onde a mesma avaliação indicou que 42,8% apresentam grau de escolaridade com ensino fundamental e 16,7% estudaram até o ensino médio. No entanto, com relação ao ensino superior, apenas 9,6% dos produtores apresentavam esse grau de escolaridade contra 20% obtidos nesse estudo. Esses resultados diferiram um pouco daqueles encontrados por Cruz et. al., (2009) em Petrolina-PE, onde 66,6% dos produtores possuem nível de escolaridade fundamental, 13,33% ensino profissionalizante e 20% não possuem escolaridade.

Segundo Silva et. al., (2005) a absorção de tecnologias visa ao aprimoramento da atividade nas propriedades. O baixo grau de escolaridade dos produtores do presente estudo talvez seja um dos entraves para se colocar em prática manejos mais elaborados, fato que pode estar relacionado com a baixa produção na maioria das propriedades visitadas.

Com relação à capacitação dos produtores, Lopes et. al., (2008) observaram que quase a metade (42,8%) das propriedades analisadas em seu estudo tem tratadores com capacitação na atividade, contra 57,1% que não tem. É importante ressaltar que a maneira como os tratadores criam seus animais pode influenciar positiva ou negativamente na incidência de doenças, por isso é fundamental que os

mesmos procurem a melhor maneira de manejar seus animais para que os problemas sanitários sejam evitados.

Observou-se que praticamente todas as propriedades avaliadas têm seus animais identificados. A identificação dos animais é de fundamental importância, pois uma vez identificados, é possível ter informações individuais e seguras sobre cada animal do rebanho.

Foi observado que 43,75% das propriedades adotam o sistema de quarentenário. Pinheiro et al. (2000) no Ceará, constataram a presença de quarentenário em apenas 2,4% e Silva et. al., (2011) no Piauí, relataram que a realização de quarentena nos animais recém-chegados foi a prática menos adotada (8,8%). É importante destacar que a adoção dessa prática pode ser considerada como um dos principais alternativas para se evitar a introdução e disseminação de doenças no rebanho (PINHEIRO, et. al., 2000).

Todas as propriedades realizam limpeza das instalações. No entanto, Cruz et. al., (2009), relataram que apenas 13% dos criatórios realizam limpeza, sendo esta semanal, onde varre e recolhe as fezes. Já Filgueira et al. (2009) revelam que a limpeza dos criatórios semanalmente é realizada em apenas 11,1% das propriedades da região de Chapada do Apodi – RN. Segundo Medeiros, et. al., (1994) para um melhor desempenho dos animais, a limpeza do local bem como a remoção dos excrementos deve ser feita, preferencialmente, todos os dias, já que este material pode ser fonte de transmissão de microrganismos. Dessa forma, a limpeza adequada das instalações ajuda a diminuir os casos de doenças no rebanho melhorando, conseqüentemente, seus índices produtivos.

Nesse estudo, foi observado que o uso de vacina ainda é baixo. Cruz et. al., (2009) verificaram que a prevenção de doenças através da prática de vacinação do rebanho foi realizada por apenas uma (6,67%) das quinze propriedades visitadas, mesmo assim apenas uma vez contra a clostridiose, na época de surto. Já Silva et. al., (2011) constataram que os criadores que vacinavam seus animais contra pelo menos uma doença somaram 48,9%, sendo também mais frequente a imunoprofilaxia contra clostridioses (81,8%). Lopes et. al., (2008) verificaram em seu estudo que apenas 14,2% das propriedades fazem uso de vacinas, contra 85,7% que não fazem. SOUZA NETO et al, 1996 já alertavam que os prejuízos na exploração de caprinos advêm das falhas de manejo, principalmente sanitário, pela falta de higiene nas instalações e falhas na aplicação de vermífugos e vacinas.

As doenças que se destacaram nas propriedades do presente estudo foram a linfadenite e helmintoses. Alencar et. al., (2008) revelaram que mais de 92% dos proprietários entrevistados em seu estudo relataram a linfadenite caseosa como principal doença que acomete o rebanho, dados semelhantes a este estudo. Além disso, a ocorrência de outras doenças como pododermatite, mastite, ectima contagioso, ceratoconjuntivite e endoparasitoses sinalizam para diversas falhas no manejo sanitário atuando como causas predisponentes para diversas enfermidades.

Também foi observado que todas as propriedades realizam algum tipo de higienização na ordenha. A higienização antes e após cada ordenha é fundamental para evitar a transmissão de doenças, como a mastite contagiosa, que é a enfermidade que mais acarreta prejuízos para a indústria leiteira sendo difícil de ser controlada (PYORALA, 2002).

A produção de leiteira dos animais desse estudo é considerada baixa. Além disso, nas propriedades onde a produção era menor, houve menos resultados positivos para a mastite (43,75%). Isso pode ser explicado pelo fato de os animais com maior produção apresentarem maior probabilidade de infecção devido a maior exposição aos agentes patogênicos (PRESTES et. al., 2003).

Alguns fatores considerados de risco podem ter influenciado no aparecimento de casos de mastite em algumas propriedades, dentre eles: número de animais do rebanho, tipo de pasto, fonte de água, origem dos animais adquiridos, empregados da propriedade, assistência veterinária e realização de pós-dipping.

Foi observado que o maior percentual de positividade para a mastite era proveniente de propriedades com até 100 animais. Em propriedades onde o manejo não é adequado, pode haver aglomeração dos animais, o que favorece o acúmulo de micro-organismos ambientais, aumentando a probabilidade de doenças no rebanho (PRESTES et. al, 2003).

O tipo de pasto também foi considerado como fator de risco para a mastite nas propriedades estudadas. Segundo Prestes et. al., (2003), a criação de animais em locais que ofereçam forragem grosseira pode contribuir para a multiplicação de patógenos envolvidos com infecções, causando posteriores prejuízos ao produtor.

A fonte de água também foi considerada como fator de risco para a mastite nas propriedades estudadas. A água utilizada pode ser considerada um veículo para microrganismos patógenos (AMARAL et al., 2004). Assim, o risco da mastite por *Staphylococcus* spp. aumenta quando se utiliza água não tratada no processo

de ordenha ou quando a água de lavagem do úbere está contaminada por coliformes. Dessa forma, faz-se necessária sua desinfecção e controle com o objetivo de minimizar os riscos à saúde humana e animal (SCHUKKEN et al. 1991).

A realização do pós-dipping também foi considerado como fator de risco para mastite. Esse tipo de manejo deve ser feito com cautela e principalmente com a utilização de soluções desinfetantes em concentrações apropriadas, pois seu uso inadequado pode causar lesões no úbere, permitindo maior susceptibilidade dos animais aos micro-organismos causadores de enfermidades (CARVALHO et. al., 2004).

Vale lembrar que o local de ordenha é de grande importância para evitar a ocorrência de mastite, uma vez que animais criados em ambientes precários e com más condições de higiene, se expõem a condições estressantes afetando, significativamente, seu desempenho produtivo comprometendo, também, a capacidade de resistência dos animais (FONSECA & SANTOS, 2001).

Estudo feito por Neves et. al., (2010), na Paraíba, revelou que 11,49% das amostras de leite de cabras foram considerados positivos para a mastite subclínica, atribuindo esse fato a ausência de desinfecção dos tetos, o que pode proporcionar maiores índices dessa enfermidade nos rebanhos.

Ainda nesse estudo, foi observado que das 538 amostras de leite, apenas 66 (12,3%) foram consideradas positivas para o CMT (escore $\geq 2+$) e 90 (16,7%) apresentaram positividade para a lactocultura. Da Silva, et. al., (1996), afirmam que os resultados de CMT escore 2+ e 3+ podem ser considerados como indicativos da infecção na espécie caprina. Além disso, estudos apontam uma maior confiabilidade do CMT quanto à sua sensibilidade a partir do nível de 2+ em decorrência do maior número de células somáticas no leite de fêmeas caprinas (CONTRERAS et al. 1996, BEZERRA et al. 2006, ALMEIDA 2009).

Medidas de controle precisam ser adotadas para que seja possível estabelecer o perfil dos animais dos rebanhos. A realização semanal ou quinzenal do CMT para identificação de mastite clínica e subclínica nos animais é considerada um manejo bastante eficiente. A higiene do ordenhador e dos tetos das fêmeas nas ordenhas é de fundamental importância, já que estas ações eliminam microrganismos da pele que potencialmente poderiam contaminar a glândula mamária (ALBUQUERQUE, 2008).

5. Conclusões

Existe alta prevalência de mastite em propriedades de caprinos leiteiros localizadas em Pernambuco.

O número de animais do rebanho, pasto inadequado, fonte de água de origem duvidosa, aquisição de animais de propriedades vizinhas, mão-de-obra familiar, assistência veterinária e realização de pós-dipping são considerados fatores de risco para a mastite em cabras leiteiras.

Referências bibliográficas

ALBUQUERQUE, I.R.R. **Perfil sanitário de rebanhos caprinos da região de Senhor do Bonfim, Estado da Bahia - Brasil.** 2008. 45p. Monografia. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande-PB, 2008.

ALENCAR, S.P. de; MOTA, R.A.; COELHO, M.C.O.C.; NASCIMENTO, S.A. do; BREU, S.R.O. de; CASTRO, R.S. de. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no sertão de pernambucano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35, 2008, Gramado. **Anais...** Gramado: COMBRAVET, 2008, CD-ROM.

ALMEIDA J.F. **Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra in natura.** 2009. 106f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 2009.

AMARAL L.A, ROMANO A.P.M., NADER FILHO A. & ROSSI JR O.D. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v. 24, n.4, p. 173-177, 2004.

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.

CARVALHO, G.F.; Molina, L.R.; da Cunha, R.P.L.; da Cruz, J.C.M.; Efeito da implementação de um programa de controle de mastite. 2004. **Artigos técnicos.** Disponível em: <http://rehagro.com.br/plus/modulos/noticias/imprimir.php?cdnoticia=713>. Acesso em: 19/06/2012.

CONTRERAS A., SIERRA D., CORRALES J.C., SANCHEZ A. & MARCO J.C.; PAAPE M.J.; GONZALO C. Physiological threshold of somatic cell count and *California Mastitis Test* for diagnosis of caprine subclinical mastitis. **Small Ruminant Research.** v. 21, p. 259-264, 1996.

CONTRERAS, G.A.; RODRÍGUEZ, J.M. Mastitis: comparative etiology and epidemiology. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia,** v.16, p. 339-356, 2011.

CORDEIRO, P. R. C; CORDEIRO, A. G. P. C. O Negócio do Leite de Cabra no Brasil e sua Cadeia Produtiva In: Estruturação da Cadeia Produtiva do Leite Caprino, Seminário Nordestino de Pecuária, 12, 2008, Fortaleza. **Anais...** Ceará: PecNordeste, 2008. CD-ROM.

CORDEIRO, P. R. C. Mercado do leite de cabra e de seus derivados. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, ano 12, n. 39, p. 32-43, 2006.

CRUZ, M.C.S.; SOUZA, V.C.; CUNHA, M.P.; COELHO, M.I.S.; MEDINA, F.T. **Perfil sanitário e zootécnico de rebanhos caprinos e ovinos criados em três assentamentos no município de Petrolina-PE**. In: IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. 2009, Belém-PA, p. 1-10; 2009.

DA SILVA, E. R., ARAUJO, A. M., ALVES, F.S., PINHEIRO, R.R. Contagem de células somáticas e *California Mastitis Test* no diagnóstico da mastite caprina subclínica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 18, p. 78-83, 1996.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION- FAO - FAOSTAT - FAT-Statistics division/ Prod STAT: Livestock (animals and primary). 2008. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/497/defaritt>. Asp.> Acesso em: 30/04/2012.

FILGUEIRA, T. M. B.; AHID, S. M. M.; SUASSUNA, A. C. D.; SOUZA, W. J. de; FONSECA, Z. A. A. de S. Aspectos epidemiológicos e sanitários das criações de caprinos na região da Chapada do Apodi. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n. 2, p. 64-67, 2009.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2001. 175p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal**, Rio de Janeiro, 2006, 62p.

LOPES, F. C.; SAKAMOTO S. M.; SOUZA, C. H.; AZEVEDO, S. S.; SILVA, J. B. A. Caracterização do sistema de produção de caprinos leiteiros na microrregião de Mossoró, Rio Grande do Norte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35, 2008, Gramado. **Anais...** Gramado: COMBRAVET, 2008, CD-ROM.

MEDEIROS, L. P., GIRÃO, R. N., GIRÃO, E. S., PIMENTAL. J. C. N. Caprinos: princípios básicos para sua exploração. **Empresa Brasileira de Pesquisa**

Agropecuária – Centro de Pesquisa do Meio Norte. Teresina, EMBRAPA – CPAMN. Brasília. 1994. 177p.

NEVES, P.B.; MEDEIROS, E.S.; SÁ, V.V.; CAMBOIM, E.K.A.; GARINO JR, F.; MOTA, R.A.; AZEVEDO, S.S. Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 30, n. 5, p. 379-384, 2010.

OLIVEIRA, J.A.M., BRAGA, G.M., DIAS, P.M. et al. Avaliação da adoção das tecnologias usadas pelos criadores de caprinos e de ovinos tropicais dos estados da Bahia, Piauí, Pernambuco e Ceará. In: ENCONTRO DA SOCIEDADE DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO, 2, 1995. Londrina, **Anais...** Londrina: Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção, 1995. p.128-147.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F.; HADDAD, J. P. A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 534-543, 2000.

PRESTES, D.S.; FILATI A.; CECIM, M.S. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam - uma revisão. **Revista da faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia.** v. 9, n. 1, p. 48-59, 2003.

PYORALA, S. NEW Strategies To Prevent Mastitis. Reproduction In Domestic Animals, **Belfast**, v. 37, n. 4, p. 211-216, 2002.

SCHALM, O.W.; & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the *California Mastitis Test*. **Journal of the American Veterinary Medical Association** v. 130, n. 5, p. 199-207, 1957.

SCHUKKEN Y.H., GROMMER F.J. & VAN DER GREER D. Risk factors for clinical mastitis in herds with low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Science.** v.74, p.826-832, 1991.

SILVA, D.F.; SILVA, A.M.A.; LIMA, A.B.; MELO, J.R.M. Exploração da Caatinga no manejo alimentar sustentável de pequenos ruminantes. In: 2º Congresso Brasileiro de extensão Universitária. 2004. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, 2004.

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 5, p.45-49. 2004.

SILVA, J.S.; CASTRO, R.S.; MELO, C.B. and FEIJO, 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 R.A.B., BATISTA, M.C.S., NASCIMENTO, C.B., ALVES, R.P.A., ALVES, F.S.F., PINHEIRO, R.R., CARDOSO, J.F.S., PAULA, N.R.O. Caracterização zoonosológica da ovinocultura e da caprinocultura na microrregião homogênea de Teresina, Piauí, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 78, n. 4, p. 593-598, 2011.

SOUZA NETO, J.; BAKER, G.A.; SOUZA, F.B. Caprinocultura de duplo propósito no Nordeste do Brasil: Avaliação do potencial produtivo. **Relatório Técnico do Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos**. 1996. p. 210-212.

4 – Artigo 2

Mastite subclínica: correlação de técnicas e influência da produção de biofilme na quantidade de células somáticas presente no leite de cabras criadas em Pernambuco

Marielly Bastos Cavalcante¹, Mateus Matiuzzi da Costa².

¹Aluna do programa de Pós-graduação em Ciência Animal

²Professor adjunto, Colegiado de Zootecnia, UNIVASF

Resumo

Nos caprinos leiteiros, a principal enfermidade que acomete esses animais é a mastite, onde esta acarreta sérios prejuízos à produção sendo causada, principalmente, por bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. Este trabalho teve como objetivo correlacionar técnicas utilizadas para detecção da mastite subclínica, bem como caracterizar, fenotípica e genotipicamente quanto à produção de biofilme, isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos de leite de cabras criadas em Pernambuco, verificando o efeito desta característica sobre os resultados dos testes de diagnóstico indireto da mastite. Foram coletadas amostras de leite de 269 cabras em lactação totalizando 538 metades mamárias. Para o diagnóstico da mastite subclínica, foram realizados os testes de CMT, lactocultura e citologia de expressão, além de ser determinado o grau de concordância entre esses testes. Também foi realizada a caracterização fenotípica e genotípica dos isolados quanto à produção de biofilme pelos testes de aderência em placas e PCR, respectivamente. Foi observado que 90 amostras de leite foram positivas na lactocultura, permitindo o isolamento de 95 cepas de *Staphylococcus* spp. sendo, em sua maioria, pertencentes ao grupo dos coagulase negativos. Os graus de concordância entre as técnicas utilizadas para diagnóstico da mastite foram: K=0,13, K=0,03 e K=0,05, para CMT, citologia de expressão entre 50 e 70% de neutrófilos e com quantidade de neutrófilos acima de 70%, respectivamente, mostrando pobre correlação entre as técnicas. A produção de biofilme pelos isolados bacterianos apresentou pouca influência nos resultados do CMT, sendo que este pode ser utilizado no diagnóstico da mastite subclínica em cabras desde que associado com o exame microbiológico. Além disso, a escassez de pesquisas sobre técnicas empregadas na detecção da mastite em cabras resulta na necessidade de mais estudos sobre a padronização dessas técnicas para que se tenha maior confiabilidade nos resultados obtidos.

Palavras-chave: células somáticas, biofilmes, gene *icaD*, mastite caprina.

Abstract

In dairy goats, the main disease that affects these animals is mastitis, where it causes serious production losses are mainly caused by bacteria called *Staphylococcus* spp. This work aims to correlate the techniques used for detection of subclinical mastitis, as well as characterize phenotypic and genotypically for the production of biofilm, *Staphylococcus* spp. obtained from the milk of goats raised in Pernambuco, checking the effect of this feature on the results of diagnostic tests indirect mastitis. We collected 269 milk samples from lactating goat mammary totaling 538/2. For the diagnosis of subclinical mastitis, the tests were performed CMT, microbiological examination and cytology of expression, besides being given the degree of concordance between these tests. Was also performed phenotypic and genotypic characterization of isolates for the production of biofilm adherence tests by plating and PCR, respectively. It was observed that 90 milk samples were positive in microbiological examination, allowing the isolation of 95 strains of *Staphylococcus* spp. being, mostly belonging to the group of coagulase-negative. The degree of agreement between techniques for diagnosis of mastitis were: $K = 0.13$, $K = 0.03$ and $K = 0.05$, for CMT, cytology of expression between 50 and 70% neutrophils and number of neutrophils above 70%, respectively, showing poor correlation techniques. The production of the biofilm bacterial isolates showed little influence on the results of CMT, and this can be used in the diagnosis of subclinical mastitis in goats provided associated with the microbiological examination. Moreover, the dearth of research on techniques used in the detection of mastitis in goats results in the need for further studies on the standardization of these techniques in order to have more reliable results obtained.

Key words: somatic cells, biofilms, gene *icaD*, caprine mastitis.

1. Introdução

A produção de caprinos e ovinos na região semiárida é uma atividade relacionada à agricultura familiar, possuindo um forte compromisso com o desenvolvimento regional. Entretanto, problemas de ordem sanitária podem ocorrer, acarretando redução do potencial produtivo dos animais. Dentre estes problemas destaca-se a mastite, que é caracterizada por um processo inflamatório da glândula mamária provocado, em sua maioria, por micro-organismos (SILVA et al. 2001). Por ser uma doença altamente prejudicial aos rebanhos leiteiros, muitos estudos sobre essa enfermidade são realizados, além disso, programas de manejo tentam melhorar a saúde da glândula mamária (GODDEN et al., 2002; FAGUNDES, OLIVEIRA, 2004).

A mastite pode ser classificada de duas formas: clínica e subclínica. A forma clínica apresenta sinais evidentes de inflamação, tais como: edema, endurecimento, elevação de temperatura, grumos, pus, dor na glândula mamária ou qualquer alteração das características do leite (FONSECA, SANTOS; 2000). Nesse tipo de mastite, os principais agentes são os *Staphylococcus* coagulase positivos a exemplo dos *Staphylococcus aureus* (CONTRERAS et al. 2003).

Já na forma subclínica não se observam alterações macroscópicas e sim alterações na composição do leite; portanto, não apresenta sinais visíveis de inflamação do úbere (CULLOR et al., 1994); além disso, é causada geralmente por *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN). Os principais SCN são *S. epidermidis*, *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. caprae* e *S. agalactiae* (CONTRERAS et al. 2003).

Assim sendo, diferentes métodos podem ser aplicados no diagnóstico da mastite subclínica. Os métodos diretos fundamentam-se na identificação do agente etiológico mediante a comprovação da presença de micro-organismos nas amostras de leite que são encaminhadas aos laboratórios. Por outro lado, os testes indiretos baseiam-se em vários critérios de evolução de intensidade da reação inflamatória (MOTA 2008).

Dos métodos que avaliam o conteúdo celular do leite, o *California Mastitis Test* (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) são os mais utilizados em caprinos, onde uma relação direta entre estes dois testes tem sido encontrada por vários autores (GALLINA et al., 1996; PERRIN, et al., 1997; SCHUPPEL, et al., 1998). Em função da sua fácil execução e interpretação, o CMT tem sido foco de

muitos estudos, cujo principal objetivo é o de determinar o escore que melhor reflita a quantidade de células somáticas existentes no leite e, conseqüentemente, o estado sanitário da glândula mamária caprina (WINTER, et al., 1999).

Outro teste utilizado para detecção da mastite subclínica é o de citologia de expressão, onde este é baseado na contagem de células somáticas (IDF, 1995). No entanto, como essa metodologia ainda é nova na detecção da mastite em cabras, pode superestimar a CCS no leite desses animais (PAAPE et al., 2001).

Já o exame microbiológico é considerado o teste padrão ouro para o diagnóstico das infecções intramamárias (CONTRERAS et al., 2007). Estudos mostram que o gênero *Staphylococcus* engloba os principais agentes etiológicos isolados de casos de mastite clínicas e subclínicas (MOTA, 2000; BERGONIER et al., 2003; LANGONI et al., 2006). São vários os fatores de virulência envolvidos nessa patogênese (HAVERI et al., 2008), principalmente a produção de biofilmes, o que explicaria a cronicidade da infecção e a produção de toxinas (FOX et al., 2005; MELCHIOR et al., 2006; LASA, PENADÉS, 2006; CLUTTERBUCK et al., 2007). Além de bactérias produtoras de biofilme tornarem-se mais resistentes, estas podem também influenciar na quantidade de células somáticas do leite (PYORALA, et al., 2009).

É importante ressaltar que a etiologia da mastite é complexa e multivariada tornando necessária a identificação dos micro-organismos determinantes da infecção da glândula mamária, tanto para o controle e prevenção, quanto para o monitoramento de rebanhos (RIBEIRO, et al., 2003).

Dessa forma, é fundamental conhecer os agentes causadores da mastite em caprinos, bem como ampliar estudos acerca da correlação entre técnicas diagnósticas voltadas para a mastite, especialmente na espécie caprina em decorrência das particularidades encontradas na fisiologia da glândula mamária nesta espécie. Com isso, o objetivou-se correlacionar técnicas para detecção da mastite subclínica além de identificar micro-organismos produtores de biofilme e, conseqüentemente a influência da formação desse biofilme sobre os resultados do CMT.

2. Material e métodos

2.1. Animais e local de coleta

Os animais avaliados nesse estudo foram provenientes de propriedades de caprinocultura leiteira localizadas em Petrolina e Santa Maria da Boa Vista, no estado de Pernambuco. Foram coletadas amostras de leite de 269 cabras, totalizando 538 amostras.

2.2. Teste de CMT

Para realização do teste de CMT, o leite das cabras foi coletado após a lavagem e antissepsia (com álcool 70%) dos tetos, sempre desprezando os três primeiros jatos. Posteriormente, o leite coletado foi misturado ao reativo que continha detergente e púrpura de bromocresol, em uma superfície plana. Em seguida, observou-se a viscosidade do material, onde esta se apresentava com maior ou menor intensidade de acordo com a quantidade de células somáticas eliminadas pelo animal. A positividade foi considerada a partir do escore $\geq 2+$.

2.3. Citologia de expressão (microscopia direta com azul de metileno)

O procedimento adotado para Citologia de Expressão (CE) foi adaptado baseando-se no método descrito por Azira (1976), no qual após posterior antissepsia dos tetos com álcool 70°GL, foi realizada uma leve pressão com os dedos indicadores e polegar, esfoliando todo o canal do teto. O material obtido foi disposto em lâminas histológicas com extremidade fosca. A partir daí estas foram fixadas em álcool metílico absoluto, esperou-se até que as lâminas estivessem completamente

secas e, posteriormente, foram coradas pela técnica de Giemsa, para avaliação da composição celular.

As lâminas coradas foram submetidas à contagem de cinco campos em microscópio de leitura óptica, calculando-se, então, a média, para classificação do tipo da inflamação quanto ao componente celular. Dessa forma, foi considerado como processo agudo quando mais que 70% das células inflamatórias são neutrófilos, ou crônico quando 50% a 70% das células inflamatórias são neutrófilos (COWELL, TYLER; 2002).

2.4. Coleta das amostras de leite

As amostras de leite foram coletadas após lavagem e antissepsia dos tetos além de desprezados os três primeiros jatos. A coleta foi feita diretamente em frascos estéreis, previamente identificados. Posteriormente, os tubos foram colocados em caixas isotérmicas com gelo e encaminhados ao laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) para que fosse feito o processamento do material.

2.5. Isolamento e identificação bacteriana

Para fazer o isolamento bacteriano, as amostras de leite foram semeadas em Agar sangue a 5%, com o auxílio de uma alça de platina, bem como em meios específicos para caracterização e identificação das espécies. Depois foram levadas para a estufa a 37°C. A leitura foi realizada em 24 e 48h sendo consideradas positivas para a mastite as placas que apresentavam uma colônia hemolítica e/ou aquelas que continham quatro colônias não hemolíticas ou mais com as mesmas características morfológicas. Os agentes bacterianos foram identificados por meio de características morfológicas, bioquímicas e tintoriais (QUINN, *et al.*, 1994) sendo que, para isto foram realizados os testes de coagulase, catalase, DNase, manitol semissólido (MSS), glicose semissólida (GSS) e ágar base púrpura (PAB).

2.6. Análise da produção de biofilme

A análise quantitativa da formação de biofilme em microplacas de poliestireno de 96 poços de fundo reto foi realizada pelo método proposto por Merino et al., (2009) com algumas modificações. Inicialmente, colônias isoladas de *Staphylococcus* spp. foram cultivadas em 3 ml de Tryptone Soya Broth (TSB), acrescido de 0,25% de glicose, e incubadas a 37°C por 24 horas. Após esta etapa, cinco microlitros dessa suspensão foram inoculados nas microplacas contendo 195µl de TSB, também acrescido de 0,25% de glicose, e novamente incubados a 37°C por 24 horas. Posteriormente, as placas foram lavadas três vezes com 200 µl de água destilada e deixadas secar em temperatura ambiente.

Após a secagem, as placas foram coradas com 100 µl de cristal violeta 0,25% por dois a três minutos, sendo essa etapa realizada em temperatura ambiente. Após esse tempo, as microplacas foram lavadas mais três vezes com água destilada. Para dissolver o corante e fazer a leitura do material, foi utilizado 200 µl de álcool-acetona (80:20). Todas as amostras foram feitas em triplicata, bem como os controles positivo e negativo. Como controle positivo, foi utilizada a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e, como controle negativo, a cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, bem como o caldo TSB estéril. A densidade óptica (DO) de cada poço foi aferida em comprimento de onda de 570nm utilizando-se espectrofotômetro apropriado (leitor de ELISA; modelo Expert Plus).

Para análise dos resultados, foi feita média aritmética da absorvância dos três poços e este valor foi comparado com a absorvância média de do controle negativo (DO_{cn}). Assim, para determinação de formação de biofilme, as amostras foram classificadas em quatro categorias: nenhuma produção de biofilme ($DO_s \leq DO_{cn}$), fraca produção de biofilme ($DO_{cn} < DO_s \leq 2x DO_{cn}$), produção de biofilme moderada ($2x DO_{cn} < DO_s \leq 4x DO_{cn}$) e forte produção de biofilme ($4x DO_{cn} \leq DO_s$).

2.7. Caracterização molecular da produção de biofilme em isolados de *Staphylococcus* spp.

A caracterização molecular dos isolados de *Staphylococcus* spp. foi realizada pela amplificação do gene *icaD*. As sequências dos iniciadores estão descritas na tabela 1.

Tabela 1. Iniciadores utilizados para caracterização molecular dos isolados de *Staphylococcus* spp.

Iniciador	Sequência (5´-3´)	Fragmento	Referência
<i>icaDF</i>	AAACGTAAGAGAGGTGG	381pb	Vasudevan et al., (2003).
<i>icaDR</i>	GGCAATATGATCAAGATAC		

Como *template* foi utilizado o DNA termo-extraído, dos isolados bacterianos em água Mili-Q, sendo que 4µl desta suspensão foram aplicados em 21µl do mix contendo 15pmol dos primers, 200µM dos desoxirribonucleotídeos, tampão de *Taq* 1x e 5U de *Taq* (CENBIOT, UFRGS). Esta mistura foi levada ao termociclador e submetida a um estágio inicial constituído de um ciclo de 2 minutos a 94°C, depois a um segundo estágio de 30 ciclos constituídos de 45 segundos a 92°C, 45 segundos a 49,8°C e 1 minuto a 72°C; e por fim, um estágio de extensão final constituído de um ciclo de 7 minutos a 72°C. O resultado do PCR foi verificado em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídio e documentado através de fotodocumentador.

3. Análise estatística

Para o cálculo do índice de concordância entre os testes diagnósticos da mastite, bem como para os testes relacionados ao biofilme, foi calculado o índice Kappa utilizando o programa WIN EPISCOPE 2.0 (THRUSFIELD, 2004).

4. Resultados

Os resultados obtidos para o teste de CMT mostraram que, ao considerar a positividade a partir do escore $\geq 2+$, das 66 amostras positivas no CMT, 46 (69,7%) foram negativas no exame microbiológico. Com isso, das 538 amostras de leite, 472 (87,7%) foram negativas para o teste de CMT e, destas, 402 (85,2%) também foram negativas no exame microbiológico. O grau de concordância entre as técnicas são mostradas na tabela 2.

Tabela 2. Análise comparativa entre o exame microbiológico e CMT de casos de mastite caprina em Pernambuco, 2011/2012.

CMT	Exame microbiológico		Total	Índice Kappa (IC 95%)
	Positivo	Negativo		
Positivo	20	46	66 (12,3%)	0,13 (-0,01 – 0,27)
Negativo	70	402	472 (87,7%)	
Total	90 (16,7%)	448 (83,3%)	538 (100%)	

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

Com relação ao teste de citologia de expressão, quando se obteve quantidade entre 50 e 70% de neutrófilos, das 257 amostras positivas para o teste, 212 (82,5%) foram negativas para o exame microbiológico. Também foi observado que das 281 amostras negativas para a citologia de expressão, 42 (15%) foram positivas no exame microbiológico. Quando a contagem de neutrófilos foi acima de 70%, foi observado que das 200 amostras positivas, 162 (81%) foram negativas para o exame microbiológico e das 338 amostras negativas para a citologia, 49 (14,5%) foram positivas no exame microbiológico. O grau de concordância entre essas duas técnicas são mostradas nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Análise comparativa entre o exame microbiológico e a citologia de expressão (entre 50 e 70% de neutrófilos) de casos de mastite caprina em Pernambuco, 2011/2012.

Citologia de expressão	Exame microbiológico		Total	Índice Kappa (IC 95%)
	Positivo	Negativo		
Positivo	48	212	257 (47,8%)	0,03 (-0,06 - 0,11)
Negativo	42	236	281 (52,2%)	
Total	90 (17%)	448 (83%)	538 (100%)	

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

Tabela 4. Análise comparativa entre exame microbiológico e citologia de expressão (nº de neutrófilos igual ou maior que 70%) de casos de mastite caprina em Pernambuco, 2011/2012.

Citologia de expressão	Exame microbiológico		Total	Índice Kappa (IC 95%)
	Positivo	Negativo		
Positivo	41	162	200	0,05 (-0,05 - 0,15)
Negativo	49	289	338	
Total	90 (16,2%)	451 (83,8%)	538 (100%)	

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

Na análise laboratorial verificou-se que das 538 das amostras de leite analisadas, 16,7% (n=90) foram positivas no exame microbiológico, sendo possível isolar 95 cepas de *Staphylococcus* spp., considerando o aparecimento de colônias diferentes (como cor e tamanho) numa mesma amostra, sendo que a maioria das bactérias isoladas pertence ao grupo dos coagulase negativos.

Com relação à análise da produção fenotípica de biofilme, dos 95 isolados avaliados, 75 (78,9%) deles se aderiram à placa de poliestireno sendo considerados produtores de biofilme. Quanto ao teste genotípico (PCR), 48 (50,5%) foram

consideradas positivas quanto à presença do gene *icaD*. Quando foi avaliado o grau de concordância (coeficiente de Kappa) entre os testes fenotípico e genotípico, foi observado que o resultado do índice Kappa foi $K=0,0$, havendo pobre concordância entre as técnicas (tabela 5).

Tabela 5. Concordância entre as técnicas de violeta de genciana e PCR de cepas de *Staphylococcus* spp., isoladas de amostras de leite oriundas de casos de mastite caprina, 2011/2012.

Violeta de genciana	PCR		Total	Índice Kappa (IC 95%)
	Positivo	Negativo		
Positivo	38	37	75	0,0 (-0,20 – 0,21)
Negativo	10	10	20	
Total	48 (50,5%)	47 (49,5%)	95 (100%)	

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

Das 38 amostras consideradas produtoras de biofilme tanto no teste fenotípico como no genotípico, 19 (50%) também foram positivas no teste de CMT (a partir do escore 1+) (tabela 6).

Tabela 6. Presença de *Staphylococcus* spp. biofilme-positivos em amostras de leite de caprino submetidas ao teste de CMT, 2011/2012.

CMT	Isolados biofilme positivos (%)
Negativo	19
+	7
++	10
+++	2
Total	38 (100%)

5. Discussão

O teste de CMT tem sido foco de muitos estudos realizados com caprinos devido à sua fácil execução e interpretação (WINTER, BAUMGARTNER, 1999). Nesse estudo, a maioria das amostras de leite avaliadas foi negativa para o teste bem como para a análise microbiológica, havendo também crescimento microbiano para algumas amostras negativas ao CMT. Figueiredo (1995), afirma que os resultados negativos ao CMT são plenamente confiáveis e bastante úteis nos trabalhos de campo. Contudo, Costa et al., (2005) discordam quanto à negatividade ao CMT em relação à presença de agentes microbianos caracterizando, portanto, os animais como portadores. Conforme este autor, o animal portador não apresenta reação positiva ao teste de CMT, contudo apresenta resultado positivo ao exame microbiológico.

Por outro lado, amostras positivas para o CMT, nem sempre revelam crescimento microbiano. Suspeita-se que o agente não seja eliminado de forma contínua podendo ocorrer resultado falso negativo. Segundo BRITO et al. (1999), as amostras de leite devem ser confirmadas microbiologicamente negativas somente após duas ou três análises. Vale ressaltar que a reação inflamatória pode estar presente mesmo sem processo infeccioso na glândula. Isso pode ocorrer devido a lesões traumáticas, agressões por agentes químicos, entre outros fatores. O agente microbiano pode ainda já ter sido eliminado, de forma natural pelos processos de auto-cura, resultando em cultura negativa (RIBEIRO et al., 2003).

Das amostras positivas para o exame microbiológico, foi possível o isolamento de 95 cepas de bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp., estando de acordo com vários outros estudos sobre a etiologia da mastite caprina no Brasil (LANGONI et al., 2006; MOTA, 2008; ALMEIDA, 2009; BOLSANELLO, et al., 2009; PEIXOTO, et al., 2010) sendo, em sua maioria (91,6%), do grupo dos coagulase negativos. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Schmidt et al., (2009) que, avaliando a ocorrência de mastite subclínica em cabras criadas no Rio Grande do Sul, identificaram os *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) em 83,8% das amostras analisadas. A presença dos SCN é bastante comum em casos de mastite em pequenos ruminantes (CONTRERAS et al., 2001), sendo que o predomínio de SCN pode ser explicado pela presença destas bactérias em locais

como a microbiota da pele e conjuntiva dos animais, particularmente no úbere de fêmeas leiteiras (MORONI et al. 2005).

Com relação à correlação de técnicas empregadas no diagnóstico da mastite, foi observada uma pobre correlação tanto entre os testes de CMT e exame microbiológico, exame microbiológico e citologia de expressão com contagem de neutrófilos entre 50 e 70%, bem como entre exame microbiológico e citologia de expressão com contagem de neutrófilos acima de 70%, com graus de concordância de $K=0,13$; $K=0,03$ e $K=0,05$ respectivamente. Vários trabalhos comprovam variações para os valores de concordância entre a positividade no CMT e a lactocultura (CONTRERAS et al., 1996; BEZERRA et al., 2006; ALMEIDA, 2009). Vale ressaltar que o número de células somáticas presente no leite pode ser influenciado, não só pela presença de micro-organismos, mas também por vários fatores não infecciosos, tais como número de lactações, raça, ambiente de criação e tipo de ordenha empregado (MADUREIRA et al., 2010), fatos que podem justificar a baixa correlação entre o CMT e exame microbiológico.

Considerando-se o exame bacteriológico como “padrão-ouro”, o CMT apresentou baixa sensibilidade (22,2%), porém, alta especificidade (89,7%), resultados diferentes aos encontrados por Neves et. al., (2010), que trabalhando com cabras leiteiras no semiárido da Paraíba, encontraram valores de 46,7% e 60,6% quanto à sensibilidade e especificidade respectivamente, afirmando que o CMT não é um método confiável para diagnóstico da mastite subclínica em cabras. Contudo, Silva et al. (2001) afirmam que o *California Mastitis Test* poderá ser utilizado como teste de triagem da saúde da glândula mamária caprina, desde que o mesmo, devido à fisiologia da glândula mamária desta espécie, seja associado ao exame microbiológico do leite para evitar resultados falso-positivos.

Quando se correlacionou a técnica de citologia de expressão (tanto para contagem de neutrófilos entre 50 e 70% como para a contagem acima de 70% de neutrófilos) com exame microbiológico, foi observada pobre concordância entre essas técnicas, além de baixa sensibilidade e especificidade. Alguns estudos utilizando a técnica de microscopia direta com azul de metileno mostraram que este corante não faz a diferenciação entre células e partículas citoplasmáticas (que contêm apenas RNA), onde estas podem ser semelhantes no tamanho e na morfologia aos leucócitos, podendo ser confundidos com células somáticas e provocar alterações nas contagens celulares (DULIN, et al., 1982; GONZALO et al.,

2003, GOMES, et al., 2006), fato que pode explicar os resultados desse estudo. Uma sugestão seria a utilização de outro corante para a microscopia direta: o verde de metila γ -piromina. Esse corante é caracterizado como uma coloração DNA-específica e a contagem microscópica direta com a sua utilização tem sido recomendada como padrão para avaliar a contagem de células somáticas no leite de cabras, pois possibilita a coloração apenas das células nucleadas e permite a exclusão dos corpúsculos citoplasmáticos do leite (ZENG et al., 1999). Dessa forma tem-se a necessidade de padronização de técnicas utilizadas para contagem celular do leite de cabras, já que a particularidade da secreção láctea caprina (do tipo apócrina) leva a erros de interpretação durante a realização de técnicas de avaliação da celularidade do leite de fêmeas dessa espécie (MADUREIRA et al., 2010).

Neste estudo foi verificado que 38 (40%) estirpes de *Staphylococcus* spp. apresentaram capacidade de produção de biofilme em comum para os dois métodos avaliados, sendo que apenas 12 (31,6%) foram positivas para o teste de CMT $\geq 2+$ (considerando esse escore para a mastite subclínica), mostrando pouca influência nos resultados para o referido teste. Contudo, deve-se levar em consideração o estudo do mesmo na capacidade que esses micro-organismos podem ter de aumentar seu potencial virulento e, conseqüentemente, levar a um aumento na quantidade de células somáticas do leite. Vasudevan et al. (2003) ao isolar *Staphylococcus aureus* de mastite bovina concluíram que a presença do *locus* ica em 100% desses isolados confirmam o potencial desse gene como fator de virulência na patogenia da mastite em ruminantes. Além disso, Pyorala et al. (2009) afirmam que esses micro-organismos podem causar infecção persistente, resultando em um aumento da contagem de células somáticas do leite, afetando sua qualidade e diminuindo a produção.

No presente estudo também foi verificado que o teste de aderência em microplacas apresentou bom resultado na expressão da produção fenotípica de biofilme. No entanto, quando se comparou essa técnica com a PCR, considerando esta como padrão de referência para linhagens produtoras de biofilme, foi observado pobre concordância entre as mesmas, além de alta sensibilidade (79,2%) e baixa especificidade (21,3%). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Melo et al., (2012), que observaram alta sensibilidade (100%) e baixa especificidade (25%) porém, foram diferentes quanto à concordância sendo que, para esses

autores, essa comparação foi considerada boa quando relacionaram os testes de PCR e aderência em placas relacionados a *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina, mostrando a importância de novos estudos sobre a padronização das técnicas fenotípicas utilizadas para cepas isoladas da espécie caprina de forma a evitar resultados falso-positivos. Ainda segundo os autores, o manejo profilático é o melhor caminho para evitar a formação de biofilme, afirmando também que novos estudos devem ser realizados a fim de se conhecer melhor os agentes formadores de biofilme bem como seus mecanismos de adesão, visando fornecer subsídios para a profilaxia da mastite em ruminantes.

6. Conclusões

As técnicas utilizadas para detecção da mastite subclínica caprina não apresentaram boa correlação entre elas.

Os principais micro-organismos isolados de mastite caprina são os *Staphylococcus* coagulase negativos, sendo a maioria produtores de biofilme.

A produção de biofilme pelos isolados bacterianos apresentou pouca influência nos resultados do CMT.

O CMT apresentou boa especificidade e pode ser utilizado como método de diagnóstico da mastite subclínica caprina, desde que associado ao exame microbiológico do leite.

Referências bibliográficas

ALMEIDA J.F. **Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra in natura**. 2009. 106f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 2009.

ANDRADE, P.V.D.; SOUZA, M.R.; BORGES, I.; PENNA, C.F.A.M. Contagem de células somáticas em leite de cabra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. vol.53, n.3, 2001.

AZÍRA, J. Diagnostico citologico en patologia mamaria. Barcelona: Espaxs. p.15-25, 1976.

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

BEZERRA, A.C.A., FEIJÓ, F.M.C.; SIVA, J.S. e 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.

BOLSANELLO R.X., HARTMAN M., DOMINGUES P.F., MELLO JÚNIOR A.Z. & LANGONI H. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácia submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedade de Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**. v.16, n.1, p.221-227. 2009.

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

CLUTTERBUCK, A. L.; WOODS, E. J.; KNOTTENBELT, D.C.; CLEGG, P.D.; COCHRANE, C. A.; PERCIVAL, S.L. Biofilms and their relevance to veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**, v. 121, p.1–17, 2007.

CONTRERAS A. Factors affecting milk somatic-cell counts in murciano-granadina goats, p.173-176. In: Rubino R. (Ed.), *Somatic Cells and Milk of Small Ruminants*. **Wageningen Academic Publishers**, Wageningen, 1996.

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., 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.; RIBEIRO, A. R.; GARINO Jr., F.; et al. Portador: um importante elo na epidemiologia de mastite infecciosa bovina. **Revista Nappama**, v.8, n.1, p. 3-6, 2005.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D. **Diagnostic cytology and hematology of the horse**. 2.ed. Mosby; Missoouri; 2002, 260p.

CULLOR, J. S., TYLER, J. W., SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna dos Grandes Animais**. São Paulo, 1994. v.2, p.1041-1060.

DULIN, A.M., PAAPE, M.J., WERGIN, W.P. Differentiation and enumeration of somatic cells in goat milk. **Journal of Food Protection**, v.45, p.435-439, 1982.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, v.34, p.1315-1320, 2004.

FIGUEIREDO, J. B. Mamite bovina: visão panorâmica de uma doença complexa In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11., 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 1995. p 176.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FOX, L.K.; ZADOKS, R.N.; GASKINS, C.T. Biofilm production by *Staphylococcus aureus* associated with intramammary infection. **Veterinary Microbiology**, v.107, p.295-299, 2005.

GALLINA, M. A.; MORALES, R.; LÓPEZ, B.; CARMONA, M. A. Sources of variation of somatic cell count during lactation in Mexican dairy goats. In: **INTERNACIONAL CONFERENCE ON GOATS**, 6., 1996. Beijing. Proceedings... v. 1, p. 325-328.

GODDEN, S.M.; JANSEN, J.T.; LESLIE, K.E. SMART, N.L.; KELTON, D.F. The effect of sampling time and sample handling on the detection of *Staphylococcus aureus* in milk from quarters with subclinical mastitis. **Canadian Veterinary Journal.**, v.43, p.38-42, 2002.

GONZALO, C.; MARTÉNEZ, J.A.; CARRIEDO, J.A.; SAN PRIMITIVO, F. Fossomatic cell-counting on ewe milk: comparison with direct microscopy and study of variation factors. **Journal Dairy Science**, v. 86, p. 138-145, 2003.

HAVERI, M.; ROSLOF, A.; RANTALA, L.; PYOROLA, S. Virulence genes of bovine *Staphylococcus aureus* from persistent and nonpersistent intramammary infections with different clinical characteristics. **Journal of Applied Microbiology.**, v.103, p.993-1000, 2008.

IDF. Enumeration of Somatic Cells, FIL-IDF Standard no. 148A. **International Dairy Federation Brussels**, Belgium. 1995. 8p.

LANGONI H.; DOMINGUES P.F; BALDINI S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.13, n.1, p.51-54, 2006.

LASA, I.; PENADE´s, J.R. Bap: a family of surface proteins involved in biofilm formation. **Research Microbiology**, v.157, p 99–107, 2006.

MELCHIOR, M.B.; FINK-GREMMELS, J.; GAASTRA, W. Comparative assessment of the antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in biofilm versus planktonic culture. **Journal of Veterinary Medicine B.**, v. 53, p. 326–332, 2006.

MELO,P.C.; FERREIRA, L.M.; NADER-FILHO, A.; ZA FALON, L.F.; VICENTE, H.I.G. Análise fenotípica e molecular da produção de biofilmes por estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos de mastite subclínica bovina. **Biosci. J.**, v. 28, n. 1, p. 94-99, 2012.

MERINO, N.; TOLEDO-ARANA, A.; VERGARA-IRIGARAY, M.; VALLE, J.; SOLANO, C.; CALVO, E.; LOPEZ, J.A.; FOSTER, T.J.; PENADÉS, J.R.; LASA, I. Protein A-Mediated Multicellular Behavior in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Bacteriology**, v.191, n.3, p.832-843, 2009.

MORONI P., PISONI G., ANTONINI M., RUFO G., VARISCO G. & BOETTCHER P. Subclinical mastitis and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus caprae* and

Staphylococcus epidermidis isolated from two Italian goat herds. **Journal of Dairy Science**. v.88, p.1694-1704, 2005.

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

MOTA, R.A.; DE CASTRO, F.J.C.; SILVA, L.B.G. da; OLIVEIRA, A.A.F. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. **A Hora Veterinária**, v.19, p.26-29, 2000.

PAAPE, M. J., POUTREL, B., CONTRERAS, A., MARCO, J. C., & CAPUCO, A. V. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. **Journal of Dairy Science**. v. 84, p. 237-244. 2001.

PERRIN, G. G.; MALLEREAU, M. P.; LENFANT, D.; BAUDRY, C. Relationships between *California Mastitis Test* (CMT) and somatic cell counts in dairy goats. **Small Ruminant Research**, v. 26, n. 1-2, p. 167-170, 1997.

PYORALA, S.; TAPONEN, S. Coagulase-negative staphylococci – Emerging mastitis pathogens. **Veterinary Microbiology**, v.134, p.3-8, 2009.

QUINN, P.J., et. al.; **Clinical veterinary Medicine**, Mosby-Year ed. London: 1994, 648p.

RIBEIRO, M.E.R.; PETRINI, L.A.; AITA, M.F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JR, W.; GOMES, J.F.; SCHRAMM, R.C.; MARTINS, P.R.; BARBOSA, R.S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do rio grande do sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p.287-290, 2003.

SCHMIDT V., PINTO A.T., SCHNEIDER R.N. SILVA F.F.P. & MELLO F.A. Caracterização da mastite subclínica em caprinos produzidos em sistema orgânico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.29, n.9, p.774-778, 2009.

SCHUPPEL, H.; SCHWOPE, M. Diagnosis of mastitis in goats using the California Mastitis Test and measurement of electric conductivity. **Archiv Lebensmittel hygiene**, v. 49, n. 3, p. 61-64, jun., 1998.

SILVA E.R., ARAÚJO A.M., ALVES F.S.F., 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, p.46-48, 2001.

THRUSFIELD M. V. **Epidemiologia Veterinária**. 2^a ed. São Paulo: Roca, 2004, 556p.

TORMO, M. A., E. KNECHT, F. GOTZ, I. LASA, AND J. R. PENADÉS. Bap-dependent biofilm formation by pathogenic species of *Staphylococcus*: evidence of horizontal gene transfer? **Microbiology**, v.151, p.2465–2475, 2005.

VASUDEVAN, P.; NAIR, M.K.M.; ANNAMALAI, T.; VENKITANARAYANAN, K.S. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. **Veterinary Microbiology**, v.92, p.179–185, 2003.

ZENG S.S., ESCOBAR E.N., HART S.P., HINCKLEY L., BAULTHAUS M., ROBINSON G.T. & JAHNKE G. Comparative study of the effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk. **Small Ruminant Research**. v.31, p.103-107, 1999.

WINTER, P.; BAUMGARTNER, W. Evaluation of CMT reactions in goat milk. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 106, n. 1, p. 30-34,1999.

Referencias bibliográficas

ALMEIDA J.F. **Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra in natura**. 2009. 106f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 2009.

ANDRADE, P.V.D.; SOUZA, M.R.; BORGES, I.; PENNA, C.F.A.M. Contagem de células somáticas em leite de cabra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. vol.53, n.3, 2001.

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

BEZERRA, A.C.A., FEIJÓ, F.M.C.; SIVA, J.S. e 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.

BOLSANELLO R.X., HARTMAN M., DOMINGUES P.F., MELLO JÚNIOR A.Z. & LANGONI H. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácia submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedade de Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**. v.16, n.1, p.221-227. 2009.

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.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, v.34, p.1315-1320, 2004.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

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

RIBEIRO, M.E.R.; PETRINI, L.A.; AITA, M.F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JR, W.; GOMES, J.F.; SCHRAMM, R.C.; MARTINS, P.R.; BARBOSA, R.S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do rio grande do sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p.287-290, 2003.

SILVA E.R., ARAÚJO A.M., ALVES F.S.F., 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, p.46-48, 2001.

ZENG S.S., ESCOBAR E.N., HART S.P., HINCKLEY L., BAULTHAUS M., ROBINSON G.T. & JAHNKE G. Comparative study of the effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk. **Small Ruminant Research**. v.31, p.103-107, 1999.

WINTER, P.; BAUMGARTNER, W. Evaluation of CMT reactions in goat milk. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 106, n. 1, p. 30-34,1999.

AMARAL L.A, ROMANO A.P.M., NADER FILHO A. & ROSSI JR O.D. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v. 24, n.4, p. 173-177, 2004.

AMEH M.J.A. e TARI I. S. Observations on the prevalence of caprine mastitis in relation to predisposing factors in Maiduguri. **Small Ruminant Research**. v.35, p. 1-5. 2000.

ANUÁRIO MILKBIZZ. **Anuário Milkbizz**. São Paulo: Milkbizz, 1999. 326p.

APARNA, M. S.; SARITA, Y. Biofilms: Microbes and Disease. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.12, n.6, p.526-530, 2008.

BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus, Micrococcus*, and other catalase-positive cocci grow aerobically. **Manual of clinical microbiology**. Washington: American Society for Microbiology, v.1, p.384-404, 2003.

BERGONIER D. & BERTHELOT X. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. **Livestock Production Science**. v.79, p.1-16. 2003.

BERNARDI, A. C. A. **Estudo de amostras de *Staphylococcus coagulase negativa* quanto à formação de biofilme.** 2005. 145 f. Tese (Doutorado em Análises Clínicas – Microbiologia clínica), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

BIANCHINI, S.; da SILVA, L.B.G.; SILVA, A.P.; LIMA, J.C.O.; FALCÃO, D.P. Frequência e etiologia da mastite caprina na região do Cariri paraibano. **Medicina Veterinária**, v.4, n.1, p.1-5, 2010.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M.A.V.P.; ARCURI, E.F. Como reconhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos. Circular Técnica. **Embrapa Gado de Leite**. Juiz de Fora - MG, 2002. 8p.

BUSATO A., TRACHSEL P., SCHALLIBAUM M. & BLUM J.W. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. **Preventive Veterinary Medicine**. v.44, p.205-220, 2000.

BUSWELL, J. Simple mastitis bacteriology for the practice. **In practice**. v.17, p.426-432, 1995.

CAPURRO, A., ARTUSSON, K., WALLER, K.P., BENGTSSON, B., UNNERSTAD, H.E., & ASPÁN, A. Comparison of a commercialized phenotyping system, antimicrobial susceptibility testing and tuf gene sequence-based genotyping for species-level identification of coagulase-negative staphylococci isolates from cases of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 134, p. 327-333. 2009.

CASTRO, F.J.C.; MOTA, R. A.; SILVA, L. B. G.; ZÜNIGA, C. A.; CASTRO JÚNIOR, I. F.; OLIVEIRA, A. A. F.; SÁ, M. E. P. Avaliação de dois protocolos de tratamento da mastite clínica e subclínica de cabras, utilizando diferentes dosagens de Gentocin Mastite 150mg. **A Hora Veterinária**. [S.l.]. v.20, n.120, p. 15-18, 2001.

CLEMENTS, A. C. A., TAYLOR, D. J., FITZPATRICK, J. L. Evaluation of diagnostic procedures for subclinical mastitis in meat-producing sheep. **Journal of Dairy Research**. v. 70, n.2, p.139-148, 2003.

CONTRERAS A., LUENGO C., SANCHEZ A. & CORRALES J.C. The role of intramammary pathogens in dairy goats. **Livestock Production Science**. v. 79, p. 273-283, 2003.

CONTRERAS A., SIERRA D., CORRALES J.C., SANCHEZ A. & MARCO J.C.; PAAPE M.J.; GONZALO C. Physiological threshold of somatic cell count and

California Mastitis Test for diagnosis of caprine subclinical mastitis. **Small Ruminant Research**. v. 21, p. 259-264, 1996.

CORDEIRO, P. R. C. Mercado do leite de cabra e de seus derivados. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, ano 12, n. 39, p. 32-43, 2006.

CORDEIRO, P. R. C. Produção de leite de cabra no Brasil. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38, 2001. Piracicaba: SBZ. **Simpósio...** Piracicaba: 2001. p.497.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do Brasil. **Revista de Educação Continuada do CMRV-SP**, São Paulo, v.1, p. 3-9, 1998.

COSTA, R. G.; BELTRÃO FILHO, E. M.; QUEIROGA, R. C. R. E.; MEDEIROS, A. N.; OLIVEIRA, C. J. B.; GUERRA, I. C. D. Características físico-químicas do leite de cabra comercializado no estado da Paraíba, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 2, p.136-141, maio/ago. 2007.

COSTERTON, J. W.; STEWART, PHILIP S.; GREENBERG, E. P. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. **Science**., v.284, p. 1318-1322, 1999.

DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures). Disponível em: <<http://www.dsmz.de/dsmz>.> Acesso em: 15/02/2012.

DHAKAL, I.P.; KAPUR, M.P.; SHARMA, A. Significance of differential somatic cell counts in milk for the diagnosis of subclinical mastitis in buffaloes using foremilk and strippings milk. **Indian Journal of Animal Health**, v.31, n.1, p.39-42, 1992.

DINGWELL R.T., LESLIE K.E., SCHUKKEN Y.H., SARGEANT J.M., TIMMS L.L., DUFFIELD T.F., KEEFE G.P., KELTON D.F., LISSEMORE K.D. & CONKLIN J. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. **Preventive Veterinary Medicine**. v.63, p.75-89, 2004.

DUBEUF, J. P.; FEHR, P. M.; RUBINO, R. Situation changes and future of goat industry around the world. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 51, n. 2, p. 165-173, 2004.

ERSKINE, R. J.; Erskine R.J.; Eberhart R.J.; Hutchinson L.J.; Spencer S.B.; Campbell M.A. Incidence and types of clinical mastitis in dairy herds with high and low somatic cells counts. **Journal American Veterinary Medicine Association**, Pennsylvania, v. 6, n. 192, p-761-765, 1988.

ERSKINE R.J., KIRK J.H., TYLER, J.W., DeGRAVES F.J. Advances in the therapy of mastitis. **Veterinary Clinics of North America Food Animal. Practice**. v.9, n.3, p.499-517, 1993.

ESSLEMONT D. & KOSSAIBATI M. Mastitis: how to get out of the dark ages. **The Veterinary Journal**. v.164, p.85-86. 2002.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION- FAO - FAOSTAT - FAT- Statistics division/ Prod STAT: Livestock (animals and primary). 2008. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/497/defaritt>. Asp.> Acesso em: 30/04/2012.

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; STAMFORD, T.L.M.; RABELO, S.S. DE A.; SILVA, D.R.; SILVEIRA FILHO, V.M.; SANTOS, F.G.B.; SENA, M.J.; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade antimicobiana in vitro de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo instituto Biologia**, São Paulo, v. 72, n.2, p. 171-177, 2005.

FROTA, M.C. **Produção de leite, queijo e iogurte de cabra exige investimento pequeno, com mão-de-obra familiar**. REVISTA GLOBO RURAL. Edição 231, 2005. Disponível em: <http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC888056-16411,00.html>. Acesso em: 24 de abril de 2012.

GARRITY, G.M. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition: The low G+C Gram positives. **Springer Verlag**, New York. ISBN 0-387-95041-9, v.3, 2006.

GILLESPIE, B.E., HEADRICK, S.I., BOONYAYATRA, S., & OLIVER, S.P. Prevalence and persistence of coagulase-negative *Staphylococcus* species in three dairy research herds. **Veterinary Microbiology**, v.134, p. 65-72, 2009.

HOGAN J.S., WEISS W.P. & SMITH K.L. Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. **Journal Dairy Science**. v.76, p.2795-2803, 1993.

HOLANDA JUNIOR, E.V. & ARAÚJO, G.G.L. O papel dos caprinos e dos ovinos deslanados na agricultura familiar. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

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

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal**, Rio de Janeiro, 2006, 62p.

IDF. Enumeration of Somatic Cells, FIL-IDF Standard no. 148A. **International Dairy Federation Brussels**, Belgium. 1995. 8p.

JAIN, A. & AGARWAL, A. Biofilm Production, a Marker of Pathogenic Potential of Colonizing and Commensal Staphylococci. **Journal of Microbiological Methods**, v.76, p.88-92, 2009.

JEFFERSON, K. K. What drives bacteria to produce a biofilm? **FEMS Microbiology Letters**, v.236, p.163–173, 2004.

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

KLOOS, W.E.; BANNERMAN, T.L. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: MURRAY, P.R. et al. (Eds.) **Manual of clinical Microbiology**. Washington: American Society for Microbiology, p. 264-82, 1999.

LIMA, G.F.C. EMATER-RN, EMPARN, EMBRAPA CAPRINOS. **Criação familiar de caprinos e ovinos no Rio Grande do Norte**: orientação para viabilização do negócio rural / Organização de Natal, 2006. 246p.

MARQUES, C.S. **Formação de Biofilmes por *Staphylococcus aureus* na superfície de aço inoxidável e vidro e sua resistência a sanificantes químicos**. 2005. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). UFLA (Universidade Federal de Lavras). 2005.

MELCHIOR, M.; VAN OSCH, M.H.J.; GRAAT, R.M.; VAN DUIJKEREN, E.; MEVIUS, D.J.; NIELEN, M.; GAASTRA, W.; FINK-GREMMELS, J. Biofilm formation and genotyping of *Staphylococcus aureus* bovine mastitis isolates: evidence for lack of penicillin-resistance in Agr-type II strains. **Veterinary Microbiology**, v.137, p.83-89, 2009.

MENDONÇA, C. L.; FIORAVANT, M. C. S.; SILVA, J. A. B. A. Etiologia da mastite bovina. **Veterinária Notícias**, v.5, n.1, p.107-118, 1999.

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.

NADER FILHO A., SCHOCKEN-ITURRINO R.P., ÁVILA F.A. & MONTANHOLI R.A. Efeito de várias medidas higiênico-sanitárias durante a ordenha na contagem microbiana do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes** v.37, p.13-15, 1982.

NOGUEIRA, D.M.; CHAPAVAL, L.; NEVES, A.L.A.; COSTA, M.M. Passos para obtenção do leite de cabra com qualidade. **Comunicado Técnico**, Embrapa Semi-Árido, Petrolina, v.135. p.1-6, 2008.

OLSON, M. E.; CERI, H.; MORCK, D.W.; BURET, A.G.; READ. R.R. Biofilm Bacteria: Formation and Comparative Susceptibility to Antibiotics. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v.66, p.86-92, 2002.

O'GARA, J. P. *ica* and Beyond: Biofilm Mechanisms and Regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiology Letters**, v.270, p.179-188, 2007.

PAAPE, M. J., POUTREL, B., CONTRERAS, A., MARCO, J. C., & CAPUCO, A. V. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. **Journal of Dairy Science**. v. 84, p. 237-244. 2001.

PAES P.R.O., LOPES S.T.A., LOPES R.S., KOHAYAGAWA A., TAKAHIRA R.K. & LANGONI, H. Efeitos da administração de vitamina E na infecção mamária e na contagem de células somáticas de cabras primíparas desafiadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.55, n.1, p.15-20, 2003.

PEDERSEN L.H., AALBAEK B., RONTVED C.M., INGVRTSEN K.L., SORENSEN N.S., HEEGAARD P.M. & JENSEN H.E. Early pathogenesis and inflammatory response in experimental bovine mastitis due to *Streptococcus uberis*. **Journal of Comparative Pathology**, v.128, p.156-164. 2003.

PEELER E.J., GREEN M.J., FITZPATRICK J.L. & GREEN L.E. The association between quarter somatic-cell counts and clinical mastitis in three British dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.59, p.169-180, 2003.

PEIXOTO, R.M.; FRANÇA, C.A.; S. JÚNIOR, A.F.; VESCHI, J.L.A.; COSTA, M.M. Etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos da mastite em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.9, p.735-740, 2010.

PRESCOTT S.C. & BREED R.S. The determination of the number of he body cells in milk by a direct method. **Journal of Infectious Diseases**. v.7, p.632-640, 1910.

PYORALA, S. NEW Strategies To Prevent Mastitis. Reproduction In Domestic Animals, **Belfast**, v. 37, n. 4, p. 211-216, 2002.

RAYNAL-LJUTOVAC K, PIRISI, A., CRÉMOUX, R., & GONZALO, C. Somatic cells of goat and sheep milk: Analitical, sanitary, productive and technological aspects. **Small Ruminant Research**. v.68, p. 126-144. 2007.

REIS, G. L. et al. Efeito do tipo de ordenha sobre a saúde do úbere e a qualidade do leite. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**. Editora FEP MVZ. 2005. v.48, p.6-13.

RUPP, R.; BEAUDEAU, F.; BOICHARD, D. Relationship between milk somatic-cell counts in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 46, p. 99-111. 2000.

SANTOS, J. E. P., CERRI RL, BALLOU MA, HIGGINBOTHAM GE, KIRK JH. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 80, p. 31-45. 2004.

SANTOS, L.M.M. **Mastite caprina: etiologia e influência na qualidade do leite**. 2009. 52f. Monografia (Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Universidade Castelo Branco.

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

SHEARER, J.K.; HARRIS JR., B. Mastitis in Dairy Goats. DS 85, **Institute of Food and Agricultural Sciences**, University of Florida. Jun. 2003. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu>>. Acesso em 08 out. 2011.

SOUZA, B.B.; SILVA, E.M.N.; SILVA, G.A.; NOGUEIRA, F.R.B. **Leite de cabra: raças utilizadas e sistemas de alimentação utilizados no Cariri paraibano.** p.01-05. 2011. Disponível em: http://www.cstr.ufcg.edu.br/bioclimateologia/artigos_tecnicos/leite_cabra_racas_utiliza_das_sistemas_alimentacao.pdf. Acesso em: 16 abr. 2012.

SVILAND, S.; WAAGE, S. Clinical bovine mastitis in Norway. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 54, p. 65-78. 2002.

TAPONEN S. e PYORALA S. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis: Not so different from *Staphylococcus aureus*? **Veterinary Microbiology**. v.134, p.29-36, 2009.

TAPONEN S, J KOORT, J BJORKROTH, H SALONIEMI AND S PYORALA. Bovine intra-mammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. **Journal Dairy Science**, v.90, p. 3301–3307, 2007.

TONIN F. B., & NADER FILHO, A. Correlação entre *California Mastitis Test* e o exame bacteriológico no leite de cabras. **ARS Veterinária**. v.21, p.155-159. 2005.

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

ZENG S.S. Comparasion of goat milk standards with cow milk standads for analysis of somatic cell count, fat and protein in goat milk. **Small Ruminant Research**. v.21, n.3, p.221-225, 1996.

APÊNDICE



Universidade Federal do Vale do São Francisco

Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal

PROJETO MASTITE EM RUMINANTES

Questionário nº

DADOS DA PROPRIEDADE

Nome da Propriedade: _____

Endereço: _____

Distrito/Localidade _____ Município _____ UF _____

I - DADOS DO CRIADOR

1. Idade do criador: anos
2. Estado civil: (1) Solteiro (2) Casado (3) Separado (4) Viúvo
3. Nível educacional:
 - (0) Não estudou
 - (1) Primário incompleto
 - (2) Primário completo
 - (3) Secundário incompleto
 - (4) Secundário completo
 - (5) Profissionalizante
 - (6) Superior

4. Já realizou algum curso ou treinamento em caprino-ovinocultura?

(0) não (1) sim

5. Pertence a algum tipo de associação?

(0) não (1) sim, a cooperativa local (2) sim, outra ()

6. Esta é sua ocupação principal?

(0) Não (1) Sim

6.1. Possui outra ocupação?

(0) Não (1) Sim:

7. Você ou outra pessoa da família ou trabalhadores já sofreram de alguma doença relacionada à criação de animais?

(0) Não (1) Sim

PROPRIEDADE:

Área: _____

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

II - CARACTERÍSTICAS GERAIS DA CRIAÇÃO

8. Tamanho do Rebanho

Borregos (<1 ano): Ovelhas: Reprodutores:

Cabritos (< 1 ano): Cabras: Bodes:

Rufião:

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

9. Raça predominante:

10. Os animais são identificados? () Sim () Não

Forma de identificação: _____

11. Tipo de produção: (1) Carne (2) Leite (3) Mista
12. Qual o critério para descarte dos animais?
() Idade () Falha reprodutiva () Doenças () Conformação () Outros
13. Tipo de manejo: (0) Nenhum/ outro
(1) Intensivo (preso dia e noite)
(2) Semi-extensivo (pasto + preso)
(3) Extensivo (solto maior parte do tempo)
14. Tipo de pasto:
(0) Não tem pasto (1) Nativo (2) Planta capim
15. Nível da produção:
a. Litros de leite por ano:
b. Número de animais vendidos/abatidos por ano:
16. Tempo na atividade:
17. Frequência com que limpa/varre/desinfeta as instalações:
(0) não limpa (1) diário (2) semanal (3) mensal (4) anual
18. Dispõe de serviço veterinário?
(0) Não (1) Particular (2) Cooperativa/ associação (3) Governo estadual/ federal
19. Empregados na propriedade: (1) Familiares (2) Contratados
20. Tem eletricidade? (0) não (1) sim
21. Fonte de água:
(0) não tem (1) açude (2) cacimba/poço (3) companhia de abastecimento (4) outra

MANEJO DA ORDENHA

22. Tipo de ordenha: (1) manual (2) mecânica.
23. Local da ordenha: (1) sala de ordenha (2) curral
24. Lavagem das tetas: (1) sim (2) não
25. Uso de caneca telada: (1) sim (2) não
26. Uso de pré-dipping: (1) sim (2) não. Qual? _____.
27. Uso de pós-dipping: (1) sim (2) não. Qual? _____.
28. Utiliza toalhas: (1) de pano (2) de papel (3) não utiliza nada
29. Número de ordenhas/dia: () uma () duas () três
- Horário das ordenhas: _____.

MANEJO SANITÁRIO

Mortalidade

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

III - PROBLEMAS SANITÁRIOS (DOENÇAS)

30. Observou alguma fêmea que não emprenhou no último ano?

- (0) Não (1) Sim

31. Número de fêmeas que abortaram (entre) no último ano:

32. Número de borregos/ cabritos que morreram durante o parto:

33. N° de cabritos/ borregos que morreram antes de 1 mês de vida:

34. Entre as doenças abaixo, assinale aquelas que ocorrem no rebanho:

Conjuntivite:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito
Pneumonia:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito
Diarréia:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito
Helmintoses:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito
Mal do Caroço:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito
Mastite:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito
Pododermatite:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito
Boqueira:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito
Aborto:	(0) não	(1) pouco	(2) às vezes	(3) muito

Vermifugação:

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

III - MANEJO DO REBANHO

35. Adquiriu fêmea reprodutora de reposição nos últimos 5 anos?

(0) Não (1) Sim

36. Adquiriu machos reprodutores de reposição nos últimos 5 anos?

(0) Não (1) Sim

37. Qual a origem dos animais adquiridos?

(1) Propriedades vizinhas (mesmo município)

(2) Outras propriedades (fora do município)

(3) Feiras ou exposições de animais

(4) Outros Estados

38. Realizou quarentena ou exames nos animais antes de introduzir no rebanho?

- (0) Não (1) Sim, ambos. (2) Somente quarentena
(3) Somente exame.

38. Já vacinou os animais contra brucelose?

- (0) Não (1) Somente os jovens. (2) Somente os adultos
(3) Todo o rebanho

39. Com que frequência vacina?

- (0) Nunca
(1) Raramente (menos de três vezes nos últimos cinco anos)
(2) Vacinou uma vez nos últimos cinco anos
(3) Todos os anos

IV - MANEJO REPRODUTIVO DO REBANHO

40. Qual o tipo de manejo reprodutivo do rebanho?

- (1) Monta natural (2) Monta controlada (3) Inseminação artificial

41. Evita contato consanguíneo? () Sim () Não

42. Qual a época (meses) de reprodução/ parição?

- (0) o ano todo (não controla) (1) controla

43. Quantos borregos/ cabritos cada fêmea produziu no último ano?

- (0) Não sabe dizer (1) 1 (2) 2 (3) 3

44. Descarte de matrizes:

- () Por idade () Baixa fertilidade () Doenças

45. Separa as fêmeas novas para serem cobertas apenas quando atingirem um determinado peso ou tamanho? () Sim () Não

46. Tem piquete maternidade onde coloca as cabras prestes a parir?

- () Sim () Não