

## Mastite por contagem de células somáticas e isolamento bacteriano em cabras negativas para *Staphylococcus aureus*\*

Camila Serva Pereira<sup>1+</sup>, Lídia Maria Marques dos Santos<sup>2</sup>, Juliana Ferreira de Almeida<sup>3</sup>, Virginia Léo de Almeida Pereira<sup>3</sup> e Elmiro Rosendo do Nascimento<sup>3</sup>

**ABSTRACT.** Pereira C.S., Santos L.M.M., Almeida J.F., Pereira V.L.A. & Nascimento E.R. [Mastitis Detected Through Somatic Cell Count and Bacterial isolation in negative goats for *Staphylococcus aureus*.] Mastite por contagem de células somáticas e isolamento bacteriano em cabras negativas para *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(1):99-104, 2016. Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil Filho, 64, Vital Brazil, Niterói, RJ 24230-340, Brasil. E-mail: camilaserva2@gmail.com

A subclinical mastitis study was conducted in nine dairy goat herds in the Rio de Janeiro state to determine the occurrence of infection, detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction, evaluate microbiological and cellular profiles of the milk and associate the influence of somatic cell count (SCC) to bacterial isolation. A total of 133 raw milk sample were collected for microbiological culture, *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction and SCC. There was bacterial growth in 64 samples (48%), among those 10 obtained isolation of two microorganisms associated. Seventy-seven isolates were found distributed in the following way: 45 (58,4%) coagulase-negative *Staphylococcus*, 9 (11,58%) coagulase-positive *Staphylococcus* e gram negative bacilli of the Enterobacteriaceae family, 5 (6,49%) *Bacillus* spp., 4 (5,19%) *Streptococcus* spp., 3 (3,89%) *Enterococcus* spp. e 1 (1,29%) *E. coli* and *Serratia* sp. The association of coagulase-negative *Staphylococcus* and Gram negative Bacilli had the largest number, with 50%, followed by 20% coagulase positive *Staphylococcus* + *Enterococcus* sp. and 10% coagulase-negative *Staphylococcus* + *Bacillus* spp., *Streptococcus* spp. + *Bacillus* spp. and *Streptococcus* spp. + Gram Negative Bacilli. No milk sample obtained positive for *Staphylococcus aureus* in culture and PCR. Mean SCC was 2.152.000 cells/mL of milk. There was no significant association between bacterial isolation and the values obtained in somatic cell count (t-Student  $p > 0,05$ ). Statistical difference was observed in SCC average of the properties studied ( $p < 0,05$ ). We conclude that Coagulase Negative *Staphylococcus* was isolated bacterial group with greater frequency and SCC does not correlate with the results of bacterial isolation and must be carefully evaluated in studies of subclinical mastitis in goats.

**KEY WORDS.** Goat milk, mastitis, microbiological, somatic cell count.

**RESUMO.** Foi realizado um estudo da mastite subclínica em nove rebanhos de cabras leiteiras localizadas no Estado do Rio de Janeiro com o objeti-

vo de investigar a ocorrência da infecção, detecção de *Staphylococcus aureus* pela reação em cadeia da polimerase, avaliar o perfil microbiológico e celu-

\*Recebido em 10 de setembro de 2015.

Aceito para publicação em 29 dezembro de 2015.

<sup>1</sup> Médica-veterinária, Doutoranda, Programa de Pós-Graduação de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brasil Filho, 64, Vital Brazil, Niterói, RJ 24230-340. \*Autora para correspondência, E-mail: camilaserva2@gmail.com - Bolsista CAPES.

<sup>2</sup> Médica-veterinária, DSc. Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, UFF, Rua Vital Brasil Filho, 64, Vital Brazil, Niterói, RJ 24230-340. E-mail: l\_msantos@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Médico-veterinário. DSc. Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Veterinária, UFF, Rua Vital Brasil Filho, 64, Vital Brazil, Niterói, RJ 24230-340. E-mails: elmiro@vm.uff.br; jufalmeida@hotmail.com; virginialeo@id.uff.br

lar do leite e associar a influência da contagem de células somáticas (CCS) ao isolamento bacteriano. Foram coletadas 133 amostras de leite de cabra *in natura* para a realização da análise bacteriológica, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para *Staphylococcus aureus* e CCS. Houve crescimento bacteriano em 64 amostras (48%), dentre essas 10 obtiveram isolamento de dois microrganismos associados. Dos 77 isolados encontrados, 45 (58,4%) foram identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa, 9 (11,58%) *Staphylococcus* Coagulase Positiva e bastonetes gram negativos da família das enterobactérias, 5 (6,49%) *Bacillus* spp., 4 (5,19%) *Streptococcus* spp., 3 (3,89%) *Enterococcus* spp. e 1 (1,29%) *E. coli* e *Serratia* sp. A associação de *Staphylococcus* Coagulase Negativa e Bastonete Gram Negativo apresentou o maior número, com 50%, seguido de 20% *Staphylococcus* Coagulase Positiva + *Enterococcus* sp. e 10% *Staphylococcus* Coagulase Negativa + *Bacillus* spp., *Streptococcus* spp. + *Bacillus* spp. e *Streptococcus* spp. + Bastonete Gram Negativo. Nenhuma amostra de leite obteve positividade para *Staphylococcus aureus* no cultivo e na PCR. A média de CCS foi de 2.152.000 células/mL. Não houve associação significativa entre o isolamento bacteriano e os valores obtidos na contagem de células somáticas (t-Student  $p > 0,05$ ). Foi observada diferença estatística na média de CCS entre as propriedades estudadas ( $p < 0,05$ ). Concluímos que o *Staphylococcus* Coagulase Negativa foi o grupo bacteriano isolado com maior frequência e a CCS não se correlaciona com os resultados do isolamento bacteriano, devendo ser avaliada com cautela em estudos sobre mastite subclínica em cabras.

PALAVRAS-CHAVE. Leite de cabra, mastite, microbiológico, contagem de células somáticas.

## INTRODUÇÃO

A caprinocultura leiteira representa atividade de elevado impacto sócio-econômico para produtores rurais. Além disso, o leite de cabra tem sido bastante utilizado como alternativa para alimentação de crianças e adultos sensíveis ou alérgicos ao leite de vaca. Tradicionalmente, a criação de caprinos é característica das regiões Nordeste e Sudeste do país. Apesar de a região sudeste dispor de apenas 4% do efetivo caprino no Brasil, destaca-se pela representatividade de seus estados no agronegócio caprino leiteiro (Borges 2006).

A mastite definida como inflamação da glândula mamária (Silva & Silva 1987), determina alterações físicas, químicas, microbiológicas e na celularidade do leite, bem como leva a efeitos patológicos no te-

cido glandular. (Megersa et al. 2010, Mungatana et al. 2011). Essa doença acarreta grandes perdas econômicas ao segmento leiteiro, seja pela redução da quantidade, como também pelo comprometimento da qualidade do leite produzido.

Embora a mastite clínica seja responsável por perdas expressivas em pequenos ruminantes, a mastite subclínica assume elevada relevância econômica em decorrência dos prejuízos na produção e da alta ocorrência. Levantamentos de pesquisa demonstram que nos rebanhos de pequenos ruminantes a mastite é predominantemente do tipo subclínica, cuja prevalência estimada está entre 5-30% (Contreas et al. 2007). Os *Staphylococcus* coagulase negativa são considerados os principais microrganismos envolvidos nesse tipo de infecção intramamária (Bergonier et al. 2003, Aulrich & Barth 2008, Neves et al. 2010, Almeida 2013). Os outros patógenos também relacionados a esse quadro são: os *Staphylococcus* coagulase positiva, *Streptococcus* spp., *Mycoplasma* spp. e os agentes ambientais, como as enterobactérias (Peixoto et al. 2010, Dal Pozzo et al. 2011).

A contagem de células somáticas é um dos parâmetros utilizados para avaliar o estado de infecção da glândula mamária e a qualidade do leite produzido (Aulrich & Barth 2008). No Brasil, não há limites máximos oficiais exigidos para a CCS no leite caprino, sugerindo-se que valores de CCS acima de 1.000.000 células/mL de leite sirvam de critério para a realização de exames microbiológicos (Paes et al. 2003).

O objetivo desse estudo foi investigar a ocorrência de patógenos causadores de mastite, detecção de *Staphylococcus aureus* pela reação em cadeia da polimerase e associar a influência da contagem de células somáticas ao isolamento bacteriano oriundo de rebanhos caprinos localizados no Estado do Rio de Janeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados leite de 133 cabras das raças Saanen e Parda alpina em diferentes estágios de lactação de nove rebanhos leiteiros, identificados de A a I, localizados nos seguintes municípios do Estado do Rio de Janeiro: Seropédica, Niterói, Friburgo, Teresópolis, Paraíba do Sul, São Gonçalo, Engenheiro Paulo de Frontin, Tanguá e Valença.

A seleção dos rebanhos analisados foi feita por conveniência (amostragem não probabilística), porém em cada rebanho os animais foram selecionados ao acaso.

As frequências obtidas pelos diferentes métodos de diagnóstico foram avaliadas estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis, Dunn, regressão logística simples e t-student ( $P < 0,05$ ).

Projeto aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense com protocolo número 593.

### Isolamento Bacteriano

Das amostras de leite coletadas assepticamente conforme instruções do NMC (1999), uma parte foi transferida para frascos estéreis devidamente identificados e transportados em caixa isotérmica com gelo para o Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal Fluminense, Niterói/RJ, a fim de serem processados para o cultivo em um período de até 24 horas após a coleta.

As amostras de leite foram semeadas em ágar sangue enriquecido com 5% de sangue de ovino e em ágar EMB ("Eosin Methylene Blue"), seguido de incubação a 37°C, realizando-se leituras após 24 e 48 horas. Nos cultivos contendo mais de cinco colônias com uma única morfologia, procedeu-se a avaliação de características de crescimento (tamanho e coloração das colônias, bem como produção de hemólise, coloração de Gram e identificação dos isolados a partir de provas bioquímicas (NMC 1999, McDougall et al. 2001).

### Contagem de Células Somáticas (CCS)

Coletou-se aproximadamente 40 mL de leite por cabra para a CCS. Este foi dispensando em frasco padronizado com o conservante bronopol®, acondicionado em caixa isotérmica com gelo e encaminhado ao Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora/MG. Para tal análise foi utilizado o método de citometria de fluxo, em aparelho Somacount 300 - Bentley Instruments EUA®.

### Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A extração de ácido desoxirribonucleico (DNA) de cada amostra de leite foi realizada pelo método de fenol/clorofórmio/ álcool isoamílico, baseada em Gregory et al. (2009). Após a extração, o DNA foi concentrado em álcool etílico, centrifugado, e o sedimento ressuspendido em tampão Tris-EDTA pH 8,3 (Sambrook et al. 1989) e estocado a -20°C.

As amplificações dos segmentos específicos do espaço intergênico 16S a 23S do rRNA da espécie *Staphylococcus aureus* foi realizada com iniciadores descritos por Forsman et al. (1997). Os iniciadores são: STAA-AuI - TCT TCA GAA GAT GCG GAA TA e STAA-AuII - TAA GTC AAA CGT TAA CAT ACG, para a reprodução de amplicons de 420 pb.

As reações de amplificação do DNA ocorreram em termociclador PTC-100 (PELTIER-EFFECT CYCLING-MJ Research, Inc.) com programação: 94°C por 3 minutos; 40 ciclos com desnaturação a 94°C por 1 minuto, pareamento a 61°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minutos. E por fim, um ciclo final de extensão de 72°C por 10 minutos. Cada tubo de reação contém: Tampão Phoeutria, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 30 pmol de cada iniciador, 200 pM de dNTPs, 1,0 U de Taq polimerase e 100 ng de DNA, com volume final da reação de 20 µL.

Como controle positivo da reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizada a cepa de *S. aureus* ATCC

13150 da coleção de micro-organismos de referência em vigilância sanitária (CMRVS) da Fundação Oswaldo Cruz, e como controle negativo, água para PCR.

Os produtos obtidos na PCR, juntamente com o marcador molecular, foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídio e visualizados em transiluminador de luz ultravioleta.

## RESULTADOS

Das 133 amostras de leite, 64 (48%) apresentaram crescimento bacteriano. Dentre essas, foram obtidos 77 isolados, sendo mais frequente *Staphylococcus* Coagulase Negativa, 58,4% (45/77), seguido de *Staphylococcus* Coagulase Positiva e bastonetes gram negativos da família das enterobactérias, 11,58% (9/77); *Bacillus* spp., 6,49 % (5/77), *Streptococcus* spp., 5,19% (4/77), *Enterococcus* spp., 3,89% (3/77), e *E. coli* e *Serratia* sp., 1,29% (1/77).

Ao analisar as propriedades isoladamente, observou-se que a I apresentou a maior frequência (73,33%) de crescimento bacteriano, com o maior número de amostras com isolamento de *Staphylococcus* coagulase positiva (5) e 6 amostras com *Staphylococcus* coagulase negativa. Ainda foram identificados 1 amostra com *Staphylococcus* coagulase positiva nas propriedades B e F, e 2 amostras na D. As demais, com exceção das propriedades C e D, que não obtiveram crescimento bacteriano, apresentaram isolamento de *Staphylococcus* coagulase negativa (Tabela 1).

Nenhuma amostra de leite obteve positividade para *Staphylococcus aureus* no cultivo e na PCR.

Foram identificadas dez amostras com crescimento bacteriano de dois microrganismos diferentes, dos quais a associação de *Staphylococcus* Coagulase Negativa e Bastonete Gram Negativo apresentou o maior número, com 50%. Os outros microrganismos encontrados associados foram: 2 amostras com *Staphylococcus* Coagulase Positiva + *Enterococcus* sp. (20%) e 1 amostra com *Staphylococcus* Coagulase Negativa + *Bacillus* spp. (10%), *Streptococcus* spp. + *Bacillus* spp. (10%) e *Streptococcus* spp. + Bastonete Gram Negativo (10%) (Tabela 2).

A CCS média foi de 2.152.000 células/mL de leite, sendo que 49,62% (66/133) das cabras apresentaram CCS acima de 1.000.000 células/mL de leite. Não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ) entre a CCS média de animais negativos e positivos no isolamento, de, respectivamente, 2.113 e 2.189 mil células/mL. Comparando os resultados da CCS média por isolamento: um tipo bacteriano, dois tipos bacterianos e nenhum isolamento, 2.238, 1.912 e 2.113 mil células/mL, respectivamente, também não foi observado diferença estatística ( $P > 0,05$ ). Houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre a CCS



Tabela 1. Frequência de crescimento bacteriano e etiologia em amostras de leite de cabra em lactação de nove propriedades de municípios do Estado do Rio de Janeiro.

Propriedade	Nº de amostras	Etiologia			Crescimento Bacteriano	
		<i>Staphylococcus Coagulase Negativa</i>	<i>Staphylococcus Coagulase Positiva</i>	Outros	Nº de amostras	%
A	14	6	0	3	9	64,28
B	15	7	1	1	8	53,33
C	15	0	0	0	0	0
D	14	6	2	5	8	57,14
E	20	6	0	5	8	40
F	20	9	1	6	14	70
G	13	5	0	1	5	38
H	7	0	0	0	0	0
I	15	6	5	2	11	73,33
Total	133	45	9	23	64	48

Tabela 2. Número de microrganismos isolados em associação de amostras de leite de cabras em lactação de nove propriedades de municípios do Estado do Rio de Janeiro.

Microrganismo	Número	%
<i>Staphylococcus Coagulase Negativa</i> + Bastonete Gram Negativo	5	50
<i>Staphylococcus Coagulase Positiva</i> + <i>Enterococcus</i> sp.	2	20
<i>Staphylococcus Coagulase Negativa</i> + <i>Bacillus</i> spp.	1	10
<i>Streptococcus</i> spp. + <i>Bacillus</i> spp.	1	10
<i>Streptococcus</i> spp. + Bastonete Gram Negativo	1	10
Total	10	100

Tabela 3. Diferenças das médias de CCS das propriedades pelo Kruskal-Wallis e Dunn ( $P < 0,05$ ).

Propriedade	CCS
A	1930 <sup>a,b</sup>
B	3421 <sup>a</sup>
C	2675 <sup>a,b</sup>
D	1841 <sup>a,b,c</sup>
E	1375 <sup>b</sup>
F	2248 <sup>a,b</sup>
G	347 <sup>b,c</sup>
H	5258 <sup>a,b</sup>
I	1337 <sup>a,b,c</sup>

<sup>a b c d e</sup> Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ).

média das propriedades pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e Dunn (Índice de confiança 95%) (Tabela 3).

## DISCUSSÃO

O isolamento de *Staphylococcus Coagulase Negativa* (SNC) em 33,83% das amostras corrobora com outros estudos sobre a etiologia da mastite caprina no Brasil (Langoni et al. 2006, Mota 2008, Schmidt et al. 2009, Peixoto et al. 2010, Oliveira et al. 2011), onde esses agentes foram os mais frequentemente encontrados na glândula mamária dos caprinos (Contreras et al. 2007, Gottardi et al. 2008, Almeida et al. 2013) e estão associados a mastite subclínica em cabras (Neves 2010). O caráter oportunista dos

SCN está relacionado com deficiências no sistema de ordenha e no asseio pessoal do ordenhador (Meireles et al. 1999, Contreras et al. 2001). Essas bactérias apresentam importância epidemiológica, pois podem causar mastite subclínica durante toda a lactação ou mesmo no período seco (Poutrel et al. 1997), tornando os animais infectados fontes de infecção em potencial no rebanho. Some-se a isso a importância econômica desses agentes, que causam prejuízos aos produtores principalmente devido à redução na produção de leite (Leitner et al. 2004). Outro fato importante são os *Staphylococcus Coagulase Negativa* também serem apontados como potencialmente enterotoxigênicos, representando perigo para a segurança dos alimentos (Gottardi et al. 2008).

A frequência de 11,58% observada para SCP está de acordo com outras publicação que classificam esse grupo de microrganismo como o segundo mais isolado em mastites caprinas (Langoni et al. 2006, Peixoto et al. 2012). Uma pesquisa sobre mastite caprina realizada no Iran encontrou 12,17% de *Staphylococcus Coagulase Positiva* nos isolados de leite caprino (Ebrahimi et al. 2010), sendo este resultado similar ao encontrado no presente estudo.

Segundo Corrales et al. (1997), *Streptococcus* spp. não constituem um grupo de bactérias prevalentes em criatórios caprinos, estando associados com

5-10% das mastites, o que está de acordo com os 5,19% obtidos neste estudo. Peixoto et al. (2012) encontrou *Streptococcus* spp. em 2,34% dos isolados em trabalho realizado no sertão da Bahia. Em relação aos bastonetes Gram positivos, *Bacillus* spp. estão raramente associados com mastites caprinas (Contreras et al. 2001), muito embora trabalho realizado na Croácia tenha isolado 2% desse microrganismo em amostras de leite caprino (Kostelić et al. 2009). O presente estudo encontrou 6,49% de *Bacillus* spp., podendo ser proveniente de contaminação ambiental.

Neste trabalho, foram isolados bastonetes gram negativos (11,58%) pertencentes à família Enterobacteriaceae. Peixoto et al. (2010) encontraram esses microrganismos em 3,9% dos isolados de leite caprino. As enterobactérias são consideradas importantes agentes das mastites ambientais (Prestes et al. 2002), estando relacionada com condições de contaminação ambiental e com a utilização de utensílios mal higienizados durante a ordenha.

Não foi identificada a presença de *Staphylococcus aureus* pelo cultivo e pela PCR, embora esse seja considerado um dos agentes isolados com mais frequência em casos de mastite caprina (Neves 2010, Peixoto 2012, Almeida 2013). Alguns trabalhos evidenciam a presença desse microrganismo em quadros mais severos de mastite clínica (Ameh & Tari 2000), o que não foi observado nos animais dos rebanhos estudados.

Não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ) entre a CCS de animais positivos e negativos para o isolamento bacteriológico neste estudo, estando de acordo com trabalhos previamente publicados (Santos et al. 2004, Villanova et al. 2008, Correa et al. 2010, Neves et al. 2010, Almeida et al. 2013). Verificou-se também a ausência de diferença estatística entre a CCS média dos isolados com um tipo bacteriano, dois tipos bacterianos e nenhum isolamento. Porém, foi constatada diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre a CCS média dos rebanhos estudados. Diante desses resultados, deve-se avaliar com cautela a viabilidade dos testes que quantificam a celularidade no leite caprino para o monitoramento da saúde do úbere, uma vez que a quantidade de células somáticas é diretamente influenciada por fatores fisiológicos, como o processo de secreção do tipo apócrina, o estágio da lactação, a época do ano e o tipo de ordenha (Neves et al. 2010). Devido a essas diferenças na glândula mamária em cabras é comum encontrar um grande percentual de amostras de leite negativas ao exame bacteriológico com contagens de células somáticas superiores a 1.000.000

céls/ml (Wilson et al. 1995). Dessa forma, resultados positivos no isolamento bacteriano devem ser analisados cuidadosamente, pois a mera presença de bactérias no leite não significa obrigatoriamente mastite. Para tanto, uma complementação ao isolamento seria a utilização da Contagem Total de Bactérias (CTB), capaz de avaliar de forma mais fidedigna a presença ou não de infecção mamária.

Neste estudo, a CCS média foi de 2.152.000 células/mL de leite, ultrapassando o valor máximo recomendado por Zeng (1996). Entretanto, está próximo dos 2.000.000 células/mL de leite propostos por Rota et al. (1994) como o limite de células fisiologicamente admissíveis no leite caprino. No Brasil, não há limites máximos oficiais exigidos para a CCS no leite caprino e, em contrapartida, a globalização dos mercados indica que medidas regulamentares nesse sentido são necessárias (Brasil 2000). Desse modo, a CCS ainda não está bem estabelecida no diagnóstico da mastite caprina, sugerindo-se que valores de CCS acima de 1.000.000 células/mL de leite sirvam de critério para a realização de exames microbiológicos (Paes et al. 2003).

## CONCLUSÃO

*Staphylococcus* Coagulase Negativa foi o agente bacteriano isolado com maior frequência nas amostras de leite, confirmando ser este o principal grupo de microrganismos isolados de úberes caprinos.

A CCS não se correlaciona com os resultados do isolamento bacteriano, devendo ser avaliada com cautela em estudos sobre mastite subclínica em cabras.

## REFERÊNCIAS

- Almeida J.F., Aquino M.H.C., Magalhães H., Nascimento E.R., Pereira V.L.A., Ferreira T. & Barreto M.L. Principais alterações no leite por agentes causadores de mastite no rebanho caprino dos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. *Arq. Inst. Biol.*, 80:13-18, 2013.
- Ameh M.J.A. & Tari I.S. Observations on the prevalence of caprine mastitis in relation to predisposing factors in Maiduguri. *Small Rumin. Res.*, 35:1-5, 2000.
- Aulrich K. & Kerstin B. Intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci and the effect on somatic cell counts in dairy goats. *Agric. Forest. Res.*, 58:59-64, 2008.
- Bergonier D., Crémoux R., Rupp R., Langriffoul G. & Berthelot X. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.*, 34:689-716, 2003.
- Borges C.H.P. Custos de produção do leite de cabra na região sudeste do Brasil. 2006. Disponível em: <<http://www.farmpoint.com.br/radares-tecnicos/gerenciamento/custos-de-producao-do-leite-de-cabra-na-regiao-sudeste-do-brasil-5n.aspx>>. Acesso em: agosto 2015.
- Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 37 de 31 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. Diário Oficial da União, Brasília, 8 de novembro de 2000.
- Contreras A. Etiología de la infección intramamaria caprina em relaci-

- ón con los programas de control. In: XXVI Jornada Científica de la SEOC. Sevilla, 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*, 68:145-153, 2007.
- Corrales J.C., Contreras A., Sánchez A., Luengo C. & Marco J.C. Etiología y diagnóstico microbiológico de las mastitis caprinas. *Ovis*, 53:33-65, 1997.
- Correa C.M., Michaelsen R., Ribeiro M.E.R., Pinto A.T., Zanela M.B. & Schmidt V. Composição do leite e diagnóstico de mastite em caprinos. *Acta Sci. Vet.*, 38:273-278, 2010.
- Dal Pozzo M., Viegas J., Santurio D.F., Rossato L., Soares I.S., Alves S.H. & Costa M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp. isolados de mastite caprina. *Ciência Rural*, 41:667-672, 2011.
- Ebrahimi A., Shams N., Shahrokh S. & Mirshokraei P. Characteristics of Staphylococci isolated from mastitic goat milk in Iranian dairy herds. *Veterinary World*, 5:205-208, 2010.
- Forsman P., Timisjarvi A.T. & Allatossava T. Identification of staphylococcal and streptococcal causes of bovine mastitis using 16s-23s rRNA spacer regions. *Microbiol.*, 143:3491-3500, 1997.
- Gottardi C.P.T., Muricy R.F., Cardoso M. & Schmidt V. Qualidade higiênica de leite caprino por contagem de coliformes e estafilococos. *Ciência Rural*, 3:743-748, 2008.
- Gregory L., Lara M.C.C.S.H., Villalobos E.M.C., Hasegawa M.Y., Castro R.S., Rodrigues J.N.M., Araújo J., Keller L.W. & Durigon E.L. Detecção do vírus da Artrite Encefalite Caprina em amostras de leite de cabras pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Nested-PCR. *Ars Vet.*, 25:142-146, 2009.
- Kostelić A., Cergolj M., Tariba B., Rupić V., Benić M., Gantner V. & Štoković I. Prevalence and aetiology of subclinical mastites in goat. *Ital. J. Anim. Sci.*, 8:134-136, 2009.
- Langoni H., Domingues P.F. & Baldini S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, 13:51-54, 2006.
- Leitner G., Merin U. & Silanikove N. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. *J. Dairy Sci.*, 87:1719-1726, 2004.
- McDougall S., Murgough P., Pankey W., Delaney C., Barlow J. & Scruton D. Relationship among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. *Small Ruminant Research*, 40:245-254, 2001.
- Meireles I.R., Gottschalk S., Da Silva A.V., Cabral K.G. & Langoni H. Monitoramento microbiológico e avaliação de provas diagnósticas na mastite caprina. *Napgama*, 6:17-19, 1999.
- Megersa B., Tadesse C. & Abunna F. Occurrence of mastitis and associated risk factors in lactating goats under pastoral management in Borana, Southern Ethiopia. *Trop. Anim. Health Prod.*, 42:1249-1255, 2010.
- Mota R.A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. *Tecnol. Ciênc. Agropec.*, 2:57-61, 2008.
- Mungatana N.K., Ngure R.M., Shitandi A., Onyiego B. & Mutuma M. Effect of experimental *Staphylococcus aureus* mastitis on compositional quality of goat milk. *International Journal of Dairy Technology*, 64:360-364, 2011.
- Neves P.B., Medeiros E.S., Sá V.V., Camboim E.K.A., Garino 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*, 30:379-384, 2010.
- NMC-National Mastitis Council. *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. National Mastitis Council, Inc, USA, 1999. 222p.
- Oliveira C.J.B., Hisrich E.R., Moura J.F.P., Givisiez P.E.N., Costa R.G. & Gerbreys W.A. On farm risk factors associated with goat milk quality in Northeast Brazil. *Small Ruminant Research*, 98:64-69, 2011.
- Paes P.R.O., Lopes S.T.A., Lopes R.S., Kohayagawa A., Takahira R.K. & Langoni H. Effects of administration of vitamin E on mammary health and milk cell counts of first parturition goats experimentally challenged with *Staphylococcus aureus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 55:15-20, 2003.
- Peixoto, R.M., Mota R.A. & Costa M.M. Mastite em pequenos ruminantes no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 30:54-762, 2010.
- Peixoto R.M., França C.A., Júnior A.F.S., 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. *Pesq. Vet. Bras.*, 30:735-740, 2010.
- Peixoto R.M., Amanso E.S., Cavalcante M.B., Azevedo S.S., Pinheiro Junior J.W., Mota R.A. & Costa M.M. Fatores de risco para mastite infecciosa em cabras leiteiras criadas no Estado da Bahia. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 79:101-105, 2012.
- Poutrel B., De Crémoux R., Ducelliez M. & Verneau D. Control of intramammary infections in goats: impact on somatic cell counts. *J. Anim. Sci.* 75:566-570, 1997.
- Prestes D.S., Filappi A. & Cecim M. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam: uma revisão. *Revta FZVA*, 9:118-132, 2002.
- Rota A.M., Rojas A., Martín L., Rodríguez P. & Tovar J.J. Uso de la prueba de califórnia para detección de mastitis en el ganado caprino. *Avances en Alimentación y Mejora Animal*, 2:67-69, 1994.
- Sambrook J., Fritsch E.F. & Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989. v.2, Cap.14.
- Santos A.R., Scherer S. & Schmidt V. Contagem de células somáticas e "California Mastitis Test" como método diagnóstico da mastite em caprinos. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 3:50-55, 2004.
- Silva M.U.D. & Silva A.E.D. Doenças mais frequentes observadas nos caprinos do Nordeste. Embrapa, Brasília. 1987.
- Schmidt V., Pinto A.T., Scheneider 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*, 29:774-778, 2009.
- Vilanova M., Gonçalves M., Osório M.T.M., Esteves R. & Schmidt V. Aspectos sanitários do úbere e composição química do leite de cabras Saanen. *Acta Scientiae Veterinariae*, 36:235-240, 2008.
- Wilson D.J., Stewart K.N. & Sears P.N. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Rum. Res.* 16:165-169, 1995.
- Zeng S.S. Comparisons of goat milk standards with cow milk standards of analyses somatic cell count, fat, and protein in goat milk. *Small Ruminant Research*, 21:221-225, 1996.