

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Presença de resíduos antimicrobianos após o período de carência, em
leite de cabras com mastite**

Gabriela Berto da Silva

Patos
2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Presença de resíduos antimicrobianos após o período de carência, em
leite de cabras com mastite**

Gabriela Berto da Silva
Graduanda

Profa. Dra. Maria das Graças Xavier de Carvalho
Orientadora

Maria Júlia Nardelli
Co-orientadora

Patos
2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

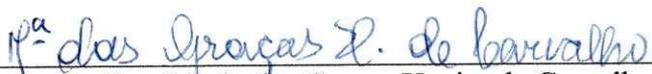
GABRIELA BERTO DA SILVA
Graduando

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico veterinário.

APROVADO EM: 03/06/2011

BANCA EXAMINADORA

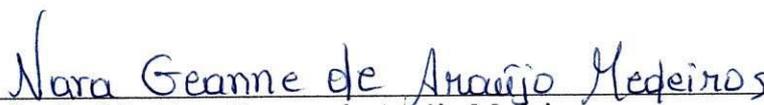
MÉDIA 9,2



Prof. Dra. Maria das Graças Xavier de Carvalho
UFCG/CSTR

9,3

Nota



Prof. Msc. Nara Geanne de Araújo Medeiros
UFCG/CSTR

9,3

Nota



Prof. Albério Antônio de Barros Gomes
UFCG/CSTR

9,0

Nota

*Aos meus pais, por trilhar os caminhos
por vocês ensinados cheguei até aqui.
Aos meus irmãos meu porto seguro.*

Dedico esta conquista...

AGRADECIMENTOS

Não poderia iniciar este agradecimento de outra forma a não ser agradecendo ao Deus todo poderoso que me concedeu sabedoria, paciência e perseverança para chegar à conclusão deste sonho...

Aos meus pais Gabriel e Fátima, agradeço pelo presente de ter um lar cheio de amor, carinho e proteção, por batalharem juntos para me dar as melhores oportunidades, por me incentivarem a nunca desistir dos meus sonhos, compartilhando comigo os momentos de tristeza e de alegria.

Aos meus irmãos Ricardo e Roberta, que sempre foram um ponto de referência na minha vida, obrigada pelo apoio e amor que vocês sempre me deram... Amooo vocês.

Ao meu noivo Francisberto, por ter sido uma pessoa tão maravilhosa, estando sempre ao meu lado, com toda paciência pra me escutar e sempre com uma palavra de conforto. Não terei como retribuir tantos conselhos. Te amo.

A minha professora Graça Xavier, que aceitou me orientar, no momento que mais precisei. Obrigada pela paciência, pelo apoio, pelo voto de confiança e por ter compreendido as minhas limitações.

A todos os meus amigos e colegas de curso, em especial Aline maga, My, Bruna, Danda e Andréa. Nunca esquecerei o nosso grupo de estudo e das noites em claro na casa de Bruna “estudando”... Obrigada por compartilhar os momentos alegres e tristes. Não teria chegado até aqui sem vocês...

As minhas amigas irmãs do Ap (Lá, Zia e Rafa), por aturarem os meus momentos de loucura... Vou guardar vocês sempre em minha vida...

Agradeço a Júlia pelo apoio, por ter me repassado seus conhecimentos, pela ajuda na construção desse projeto, e pela amizade.

A professora Nara, por ter me acompanhado nas viagens e me ajudado nas coletas, pelas ótimas conversas. Admiro você pela sua doçura e delicadeza frente à vida.

Ao senhor Eduardo Loureiro, proprietário da Fazenda onde foi desenvolvido o projeto, obrigada pela confiança, ao seu Paulo, pela ajuda com os animais. Foram pessoas fundamentais para a realização deste trabalho

A equipe do Laboratório de microbiologia em especial professor Felício e a Layze que contribuíram para a realização deste trabalho e aos animais.

*...”Construí amigos, enfrentei derrotas,
venci obstáculos, bati na porta da vida
e disse-lhe: Não tenho medo de vivê-la”...*

Augusto Cury

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE GRÁFICOS	7
LISTA DE QUADROS	7
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Criação de Cabra	13
2.2 Leite de Cabra	13
2.3 Mastite	15
2.4 Testes utilizados no diagnóstico de Mastite	16
2.4.1 Tamis “teste da caneca de fundo preto”	16
2.4.2 California Mastitis Test (CMT)	16
2.4.3 Contagem de Células Somáticas (CCS)	17
2.4.4 Cultivo e Isolamento Microbiológico	17
2.5 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	18
2.6 Resíduo de Antimicrobianos no Leite	19
2.6.1 Delvotest SP	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Localização	23
3.2 Período de execução	23
3.3 Rebanho Estudado	23
3.4 Coleta dos dados	24
3.5 Local de análise das amostras	24
3.6 Coleta das amostras	24
3.7 Análise microbiológica	25
3.8 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	25
3.9 Detecção de resíduos de antimicrobianos	26
3.10 Análise dos resultados	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
6. REFERÊNCIAS	38

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1- Mapa Político Regional da Paraíba destacando o município de Emas, localizado no sertão.	23
Figura 2- Prova de sensibilidade aos antimicrobianos: cepa de <i>Staphylococcus</i> spp. sensível a amoxicilina (10mg), gentamicina (10mg), oxacilina (1mg), sulfazotrim (25mg) e tetraciclina(10mg); e resistente a estreptomicina (10mg) – disco inferior ao centro.	26
Figura 3- Adição de 0,1 mililitro de leite em cada ampola, com auxílio de uma pipeta calibrada.	27
Figura 4 - Amostras mantidas em banho-maria à temperatura de $64^{\circ} C \pm 0,5^{\circ} C$ por 3 horas.	27

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Valores percentuais e reais dos animais positivos nos testes de diagnóstico da mastite, em um rebanho localizado no município de Emas-PB, no período de 2010 e 2011.	28
Gráfico 2- Valores percentuais e absolutos do número total de tetos sem crescimento bacteriológico, positivos para crescimento de <i>Corynebacterium</i> e <i>Staphylococcus</i> , de um rebanho localizado no município de Emas- PB no ano de 2010 e 2011.	31
Gráfico 3- Valor real da persistência de Gentamicina e Oxitetraciclina após o período de carência, nos animais tratados no município de Emas-PB, no período de dezembro de 2010 a janeiro de 2011.	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Persistência da eliminação de antimicrobianos no leite de cabras tratadas com antimicrobianos de um rebanho no município de Emas-PB no período de dezembro de 2010 a janeiro de 2011, em função das vias utilizadas no tratamento do animal.	21
Quadro 2 - Limite de sensibilidade (em $\mu\text{g}/\text{kg}$) do Delvotets SP para diferentes antimicrobianos.	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Relação entre o California Mastitis Test e Exame Bacteriológico por teto no leite de cabras, de um rebanho localizado no município de Emas-PB, no ano de 2010 e 2011.	29
Tabela 2-	Valores percentuais e absolutos para os testes de Tamis, CMT e microbiológicos dos tetos de animais em lactação, de um rebanho localizado no município de Emas-PB	30
Tabela 3-	Nível de correlação e significância existente entre a CCS e CMT, do leite de cabras de um rebanho no município de Emas-PB, no ano de 2010 e 2011.	32
Tabela 4-	Resultado de antibiograma de cultura do <i>Staphylococcus</i> e <i>Corynebacterium</i> , isolados em animais com mastite clínica e subclínica, de um rebanho localizado no município de Emas-PB no ano de 2010 e 2011.	32
Tabela 5-	Resultado do Delvotest, mostrando a persistência dos resíduos de antimicrobianos, no leite de cabras com mastite, de um rebanho no município de Emas-PB, no ano de 2010 e 2011, tratadas com Gentamicina e Oxitetraciclina, após o período de carência de 96 horas.	34
Tabela 6-	Persistência de resíduo antimicrobiano de Oxitetraciclina administrado por via intramuscular e Gentamicina intramamária, após o período de carência (96 horas) no leite de cabras em lactação de um rebanho.	36
Tabela 7-	Eficiência dos antimicrobianos Oxitetraciclina e Gentamicina, após 12 dias do tratamento das cabras com mastite, em um rebanho localizado no município de Emas-PB, no ano de 2010 e 2011.	36

RESUMO

Essa pesquisa teve como objetivos, monitorar a persistência da eliminação de resíduos dos medicamentos, no leite de cabras lactantes, após o período de carência determinado pelo laboratório dos fármacos, verificar a ocorrência de mastite, em um rebanho e identificar os agentes etiológicos da enfermidade, bem como sua sensibilidade frente aos antimicrobianos. Para isso foram coletadas amostras de 67 animais, de um rebanho localizado no município de Emas-PB, nos anos de 2010 e 2011, e realizando os testes de Tamis, *California Mastitis Test* (CCS), Contagem de Células Somáticas (CMT), cultivo e isolamento bacteriano, antibiograma e pesquisa de resíduo pelo teste de triagem Delvotest SP. Encontrando como resultados positivos por animal: Tamis 10,44%; CMT 52,23%; CCS 44,77%; Cultivo Microbiológico 16,41%; sendo os agentes isolados *Staphylococcus* e *Corynebacterium*, que apresentaram resistência a penicilina, ampicilina, clorafenicol, oxacilina. Os antimicrobianos utilizados no tratamento dos animais apresentaram persistência de resíduos dois dias após o período de carência indicados pelos fabricantes.

Palavras chave: cabra, leite, mastite, antibiótico.

ABSTRACT

This research had the purpose of monitoring the continuing disposal of medicines in the milk of lactating goats, after the grace period determined by the laboratory of drugs, to verify the occurrence of mastitis in a herd and to identify the etiologic agents of disease, as well as its sensitivity antimicrobials. For this, samples of 67 animals in a herd located in the municipality of Emas-PB, in the years 2010 and 2011, and performing tests Tamis, California Mastitis Test (CCS), Somatic Cell Count (MTC), growing and bacterial isolation, antibiotic residues by the research and screening test Delvotest SP. Finding such positive results for animal: Tamil 10.44% 52.23% CMT; CCS 44.77% 16.41% microbiological culture, and the agents isolated *Staphylococcus* and *Corynebacterium*, which were resistant to penicillin, ampicillin, chloramphenicol, oxacillin. The antibiotics used in the treatment of the animals showed persistence of waste two days after the grace period given by the manufacturers.

Key-words: she-goat, milk, mastitis, antibiotic.

1. INTRODUÇÃO

Leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina sadios, bem alimentados e descansados (BRASIL, 2000). Sendo considerado um alimento com alto valor nutritivo e contendo os elementos necessários à nutrição humana, como açúcar (lactose), proteínas, gorduras, vitaminas, ferro, cálcio, fósforo e outros minerais. Sua digestibilidade é facilitada em virtude do tamanho reduzido e fácil dispersão dos seus glóbulos de gordura e pela proteína que quando coagula forma uma coalhada fina, macia e com perfeita digestão em um curto espaço de tempo (COSTA, 2008).

Devido a sua composição química, o leite é considerado um excelente meio de cultura, podendo ser facilmente contaminado por vários microorganismos (DOYLE; BEUCHAT; MONTVILLE, 1997; CHYE; ABDULLAH; AYOB, 2004).

Brito (2003) relata a preocupação por parte da Organização Mundial da Saúde (OMS) com relação à presença de substâncias químicas nos alimentos e que atualmente, diversas organizações internacionais estão envolvidas no desenvolvimento de mecanismo de controle dessas substâncias (antibióticos, hormônios, pesticidas e parasiticidas) usadas na produção animal. Segundo ela, esses mecanismos incluem o controle da distribuição e uso em animais e a determinação em níveis seguros de resíduos.

Segundo Cerqueira (2003), o uso indiscriminado e a não observação do período de carência dos medicamentos antimicrobianos nos animais em lactação, levam a presença de resíduo no leite, podendo acarretar sérios problemas de saúde pública como: reações alérgicas, assim como choque anafilático em indivíduos sensíveis; alterações na pele, caracterizadas principalmente por dermatites e urticárias; distúrbios dentários e ósseos; anemia aplástica; distúrbio de microbiota intestinal; além dos efeitos de carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade e ototoxicidade; hepatite colestásica; alterações no crescimento e nas cartilagens e neurite óptica.

Mesmo que seja respeitado o período de carência indicado na bula do medicamento, o processo inflamatório da glândula mamária aumenta o risco da presença

de resíduos de antimicrobianos no leite, podendo inclusive determinar períodos de eliminação além daqueles estabelecidos nas bulas (RAIA et al., 1999; RAIA, 2001). Além disso, a mastite caracteriza-se por provocar alterações fisicoquímicas e microbiológicas do leite, com destruição parcial ou total do tecido da glândula mamaria, dependendo do agente microbiano envolvido (LANGONI et al. 1999).

Pelo impacto negativo que a mastite pode causar no rebanho e o risco da presença de resíduos antimicrobianos a saúde do homem, essa pesquisa teve como objetivo principal, verificar a ocorrência de mastite, em um rebanho, além identificar os agentes etiológicos da enfermidade, bem como sua sensibilidade frente aos antimicrobianos e monitorar a persistência da eliminação de resíduos dos medicamentos, no leite de cabras lactantes, após o período de carência determinado pelo fabricante.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Criação de Cabra

As características biológicas de adaptabilidade dos caprinos possibilitam a exploração de uma diversidade de produtos que são valorizados no mundo inteiro, como: carne, leite, esterco, pele, pelo dentre outros. Tais produtos podem cumprir o papel de geração de renda e contribuir diretamente ou indiretamente para a garantia da segurança alimentar da família. Diretamente porque a carne e o leite representam as principais fontes de proteína da dieta do humano e indiretamente na fertilização do solo, possibilitando o aumento da produção agrícola (SINN; KETZIS; CHEN, 1999 apud NARDELLI, 2008).

O Brasil oferece ótimas condições para a criação de caprinos e está colocado entre os dez países possuidores dos maiores rebanhos dessa espécie no mundo. Os caprinos concentram sua maior população no Nordeste, com aproximadamente 90% do rebanho, com ênfase para Bahia, Pernambuco, Piauí e Ceará. A Paraíba ocupa o quinto lugar do rebanho nacional. Baseada em dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009), órgão oficial responsável pela realização do censo agropecuário, mostra que o rebanho de caprinos no Brasil é de 9.163.560, na região nordeste é de aproximadamente 8.302.817 e na Paraíba o rebanho é composto por 624.205 animais.

2.2 Leite de Cabra

O mercado consumidor tem o leite como um alimento especial, por ser importante na alimentação de recém nascidos, crianças em fase de crescimento, adultos, jovens e idosos. Assim, o conceito nutricional do leite está próximo do alimento completo, além da impressão de pureza associada à cor branca (KATZ; BRADY, 1993, COSTA, 1999).

O leite de cabra é um produto que começa a se firmar no mercado brasileiro e vem conquistando cada vez mais os consumidores, por possuir alto valor nutritivo e elementos necessários à nutrição humana, como açúcar (lactose), proteínas, gorduras, vitaminas, ferro, cálcio, fósforo e outros minerais (COSTA, 2008). Existe um grande interesse na produção de leite de cabra em virtude do seu alto valor nutritivo, nível de qualidade dietética, despertando a iniciativa governamental para a criação de programas que

objetivam elevar o nível nutricional da dieta familiar da população de baixa renda e proporcione, a formação de mercados consumidores de leite e seus derivados nas áreas urbanas (MEDEIROS et al., 1994).

A maior parte do leite de cabra (93 a 95%) é consumida sob a forma de leite fluido. Já os derivados lácteos do leite de cabra ainda representam uma pequena porcentagem do consumo total, sendo 3,0% à 4,0% em forma de leite em pó e 2 à 3% como queijos, doces, iogurtes, sorvete e cosméticos (SIMPLICIO; WANDER, 2003).

O leite de cabra era analisado segundo a legislação para leite de vaca, ou, especificamente em alguns estados onde existe legislação própria. Mas em novembro de 2000 aprovou-se a Instrução Normativa nº37 de 31 de outubro de 2000 que entrou em vigor a legislação federal para leite de cabra, envolvendo aspectos desde a produção até a sua saída da indústria, obedecendo aos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o qual determina padrões físicos-químicos e microbiológicos para o leite cru, pasteurizado e esterilizado (BRASIL, 2000).

Com o aumento na produção leiteira, tem surgido uma maior preocupação com a qualidade do leite, o que requer o controle de alguns fatores que possam alterar suas características, de forma que se evite sua contaminação com agentes físicos, microbiológicos e ou químicos. A mastite caprina representa um entrave na produção de leite por causar grandes prejuízos aos produtores devido aos danos na glândula mamária dos animais provocado pelos agentes dessa enfermidade, em especial as bactérias, que ocasionam diminuição na produção do leite, e no rendimento, deixando sabor desagradável nos produtos e o perigo de doenças transmitidas por alimentos (CHAPAVAL; PEREIRA; SOUSA; MIRANDA e MAGALHÃES, 2009)

A qualidade do leite assume destacada importância sob o ponto de vista da Saúde Pública, pois, embora não existam estatísticas disponíveis sobre o assunto, são frequentes os casos de doenças associadas ao consumo de leite cru ou de derivados produzidos com leite contaminado com micro-organismos patogênicos. É evidente a importância do *Staphylococcus aureus* para a saúde pública, principalmente no que se refere às suas exotoxinas, responsáveis por intoxicações alimentares, ressaltando a importância da implantação de programas de controle em propriedades leiteiras. (FAGUNDES e OLIVEIRA 2004).

As infecções causadas por microrganismos são os principais fatores que leva a utilização de antibióticos no rebanho leiteiro, podendo ser resultantes dos seguintes fatores:

deficiência de higienização, condições ambientais, utensílios contaminados e doenças do rebanho e do homem (SOUZA; BENEDET, 1988 apud NARDELLI 2008).

2.3 Mastite

Mastite é o processo inflamatório da glândula mamária, podendo ser de origem infecciosa ou não. Caracteriza-se por alterações do tecido glandular e do leite. Apresenta-se sob as formas clínica (aguda, subaguda ou crônica) e subclínica. As causas predisponentes da enfermidade são a alta atividade do úbere, a retenção de leite, ferimentos externos e a falta de higiene (CORREA et al, 2001). Segundo Radostitis (2000) a prevalência de mastite caprina varia em 10 a 30%.

A mastite afeta, qualitativa e quantitativamente, a produção de leite. Observa-se um menor teor de lactose, caseína, gordura, cálcio e fósforo e um aumento nas células somáticas, imunoglobulinas, cloretos e lípases. Com estas alterações, o leite torna-se inadequado para o consumo e para a produção de derivados (COSTA, 1998; SANTOS, 2003).

De acordo com o Manual Merck de Veterinária (2001), a enfermidade ocorre em todas as raças, sendo que em cabras mais velhas e/ou cabras na fase final de lactação o leite apresenta níveis mais elevados de células somáticas.

Não resta dúvidas de que o combate à mastite é o principal responsável pela presença de antibiótico no leite. Esta enfermidade no rebanho leiteiro bovino do Brasil atinge índices elevados, principalmente a forma subclínica, alcançando 72% (COSTA et al. 1995).

Para Cerqueira (2003), a mastite é responsável por 80 a 90% da presença de resíduos de antimicrobianos no leite, e as razões para a presença de resíduos incluem: não observância do período de carência do antimicrobiano; mistura acidental do leite de animais não tratados com o leite de animais tratados; excreção mais prolongada do antibiótico do que a indicada pela bula; partições antes do período esperado; equipamentos de ordenha contaminados; além de mitos por parte dos produtores, de que, se diluir o leite de animais tratados no tanque contendo um maior volume, não haverá riscos.

2.4 Testes utilizados no diagnóstico de Mastite

Vários estudos têm indicado e confirmado diferenças fisiológicas e microbiológicas entre a glândula mamária caprina e a bovina, demonstrando que devem ser realizadas adaptações dos testes para caprinos, dos testes de diagnósticos empregados nos bovinos (PERRIN et al., 1997).

2.4.1 Tamis “teste da caneca de fundo preto”

O exame macroscópico do leite é realizado com auxílio de uma caneca telada, de fundo preto e brilhante que permite notar a descoloração do leite que pode ser de caráter sanguinolento ou aquoso e a presença de coágulos, flocos e pus. O leite de cada teta deve ser acondicionado em locais distintos, de modo a permitir a comparação entre diferentes amostras. A caneca telada é um auxiliar valioso na detecção de mastite (RADOSTITS, 2002).

2.4.2 *California Mastitis Test (CMT)*

O *California Mastitis Test (CMT)* é um método amplamente difundido como auxiliar no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos, desenvolvido por Schalm e Noorlander em 1957. Esse método mede indiretamente a concentração de leucócitos no leite. Entre suas vantagens citam-se a rapidez, fácil manejo e exatidão, podendo ser utilizado a campo ou no laboratório (DA SILVA et al., 1996).

Devido a sua fácil execução e interpretação, 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; ROTA et al, 1994).

Foi proposto os seguintes valores para interpretação dos resultados do CMT, em relação à CCS no leite de caprinos: escore negativo até $7,92 \times 10^5$ cél/ml; escore 1 $> 7,92 \times 10^5$ cél/ml a $1,36 \times 10^6$ cél/ml; escore 2 $> 1,36 \times 10^6$ cél/ml a $1,70 \times 10^6$ cél/ml e escore 3 acima de $1,70 \times 10^6$ cél/ml de leite (GUIMARÃES et al., 1989 apud CORREA 2001).

2.4.3 Contagem de Células Somáticas (CCS)

As células somáticas abrangem diferentes elementos celulares normalmente presentes no leite, compreendendo células de defesa e epiteliais de descamação. Entre os fatores que podem provocar aumento na CCS, as mastites, sobretudo as bacterianas, são os mais importantes. Por isso, a enumeração das células presentes no leite é uma boa forma de acompanhar o estado sanitário do úbere, além de indicar possíveis reduções na produção de leite e alterações na sua composição físico-química, com conseqüente comprometimento do rendimento industrial (ANDRADE et al., 2001).

O leite caprino, em comparação ao bovino, apresenta CCS fisiológica elevada. A contagem de células somáticas no leite de vacas livres de infecção intramamária, varia de 40.000 - 80.000/ml, enquanto que no leite de cabras esse valor varia de 50.000 -400.000/ml (TONIN, 1999).

Em caprinos, deve existir uma especial atenção na contagem de células somáticas, pois devido ao tipo de secreção apócrina, na qual a parte apical das células secretórias do leite é eliminada junto com o leite, diversas partículas citoplasmáticas são encontradas na secreção láctea. Essas estruturas têm diâmetro e morfologia semelhantes a leucócitos, contêm grande quantidade de proteína e RNA, mas nenhum DNA. Visando evitar que essas partículas sejam erroneamente contadas como células, na análise de leite de cabra deve-se utilizar apenas métodos que meçam especificamente o DNA (BRANDESPIM, 2007). Outros aspectos que devem ser considerados na contagem de células somáticas é a influência que os estágio de lactação, infecção intramamária e infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina (CONTRERAS, et al. 1998). Netas trabalho foi considerado valor de CCS acima da normalidade $5,0 \times 10^5$.

2.4.4 Cultivo e Isolamento Microbiológico

Quando o leite se apresentar com coloração, odor ou consistência anormais, ou se originar de um úbere quente e inflamado, ou ainda se apresentar positivo para uma prova de triagem como o CMT, deve-se coletar amostra para a cultura microbiana e para o antibiograma (ANDERSON et al, 2005).

A análise microbiológica do leite fornece dados relevantes quanto à mastite clínica e subclínica, é importante para que se avalie com precisão os agentes etiológicos mais prevalentes no rebanho, objetivando fechar um correto diagnóstico e adotar medidas de controle da mastite para cada rebanho (FONSECA e SANTOS, 2000).

Os agentes etiológicos mais freqüentemente envolvidos na mastite caprina são: *Staphylococcus* coagulase positiva; *Staphylococcus* coagulase negativa; *Corynebacterium* sp.; *Streptococcus* spp.; *Escherichia coli*; *Micrococcus* spp.; *Pasteurella* spp.; *Arcanobacterium* (*Actinomyces*) *pyogenes*; *Pseudomonas* spp.; e os microorganismos Gram-negativos que, como nas vacas, causam infecções que podem ser severas. Outro importante agente envolvido na mastite caprina é o *Mycoplasma* spp.. As infecções por *Mycoplasma mycoides mycoides* e *M. putrefaciens* causam, algumas vezes, sérios surtos de mastites em caprinos (Manual Merck de Veterinária. 1997).

Entretanto, as infecções intramamárias causadas pelo *S. aureus* requerem uma atenção especial porque essa bactéria pode ser responsável tanto pela mastite subclínica, como pela mastite clínica nas formas aguda, subaguda e crônica, podendo até se apresentar como mastite gangrenosa ou catarral (SCHULZ, 1999, CONTRERAS et al., 2007; RIBEIRO et al., 2007). Existem também outros fatores que contribuem para a virulência do *S. aureus*, como as leucotoxinas, capazes de destruir os monócitos e os neutrófilos polimorfonucleares (PMN) e a secreção de um exopolissacarídeo capaz de formar uma barreira que impede a ação da resposta imune e dos quimioterápicos (SILVA et al., 2006; CONTRERAS et al., 2007).

2.5 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos, também denominado de antibiograma, é uma técnica de diagnóstico *in vitro* na qual os microorganismos são colocados em contato com um ou mais antimicrobianos de uso terapêutico e observa-se o efeito dessas drogas sobre os mesmos por um período de tempo e temperatura de incubação pré-determinados. Os resultados podem variar de maneira considerável dependendo do micro-organismo, do antimicrobiano e das condições experimentais, mas em geral elas correspondem ao que aconteceria se o antibiótico fosse aplicado *in vivo* (SORIANO, 2002; QUINN et al., 2005). A técnica de antibiograma mais comumente utilizado é através do “teste de difusão em ágar”, onde uma concentração padrão de uma cultura pura de um determinado patógeno é

semeado uniformemente sobre um ágar apropriado e, em seguida, discos de papel de filtro individuais contendo concentrações conhecidas dos antimicrobianos são colocados sobre o ágar, sendo o mesmo incubado a 35°C por um período de 18 a 24 horas (BAUER et al., 1966 apud CAVALCANTE, 2008). O halo de inibição ao redor de cada disco de antimicrobiano é medido e esse valor é confrontado com uma tabela internacionalmente reconhecida e utilizada que classifica o microrganismo frente a cada um dos antimicrobianos testados como sensível, intermediário ou resistente (PRESCOTT, 2003; QUINN et al., 2005).

Pesquisas tem demonstrado que diversas bactérias já apresentam resistência a alguns antimicrobianos; por isso, sempre que possível, o tratamento com antimicrobianos deve ser baseado em teste de sensibilidade (COSTA, 2002; RADOSTITS et al., 2002).

2.6 Resíduo de Antimicrobianos no Leite

No combate a infecções torna-se necessário a aplicação de antimicrobianos, o leite produzido, pelos animais tratados possui altas concentrações do antimicrobiano, não estando adequado para o consumo nem para a produção de derivados. O risco de contaminação é altamente minimizado quando: o animal é identificado; o prazo de carência da droga aplicada é respeitado; testes de resíduos de antimicrobianos são aplicados no animal em tratamento, antes de sua liberação. O erro mais comum é imaginar que a quantidade de antimicrobianos é pequena e será diluída no leite. Esta forma de pensar normalmente ocasiona os problemas de contaminação. No leite a contaminação é avaliada em partes por bilhão (ppb), o que significa que uma dose de 500 mg de antimicrobiano aplicada em um animal poderá contaminar até 100 mil litros de leite (DIETRICH, 2008).

A presença de resíduo de Medicamentos Veterinários em alimentos é uma preocupação mundial. Esses resíduos de antimicrobianos no leite decorrem principalmente do uso abusivo destes medicamentos ou da utilização de maneira inadequada, como: o uso de medicamentos sem recomendação do Médico Veterinário, doses excessivas e o desrespeito ao período de carência do leite dos animais em tratamento, interrupção do tratamento, além de problemas individual de animais que apresentam uma prolongada retenção do medicamento e em casos em que ocorre a antecipação do parto (COSTA, 1999; COSTA et al., 2000). Outros fatores são: a utilização de drogas na alimentação animal, como suplemento de dietas; a deficiência na cadeia produtiva e tecnológica, como

manejo sanitário inadequado; falhas na assistência técnica e fiscalização dos órgãos responsáveis; o desconhecimento por parte dos produtores, dos perigos e prejuízos que podem ocorrer; adição proposital de drogas para encobrir a deficiência na qualidade higiênica do leite e aumentar seu tempo de vida útil; o extrapolamento do período de eliminação dos resíduos como indicado na bula do medicamento (BRASIL, 1991/1992; RAIA JÚNIOR, 2006; NARDELLI, 2008).

Os antibióticos também podem ser encontrados no leite após aplicações fraudulentas, no sentido de melhor qualificar o produto ou através de antibioticoterapia pelas mais diferentes vias de aplicação (parenteral, intra-uterina, oral e principalmente intramamária). A contaminação desses agentes antibacterianos eliminada pelo leite oscila entre 8 e 80% do princípio ativo que é aplicado na glândula mamária. Em média, 50% da droga não são absorvidos pelos tecidos, sendo portanto excretada pelo leite (ALBRIGHT et al. 1961 apud FAGUNDES, 1997)

A presença de inibidores bacterianos no leite de consumo resulta em grande preocupação tanto para a indústria por provocar prejuízos econômicos, como para saúde pública, pelo risco de provocar reações alérgicas, choques anafiláticos, má formação fetal, além de indução a resistência bacteriana (BRASIL, 1991/1992).

Segundo RAIA (2001), verificou-se que os métodos habitualmente empregados para a preservação da qualidade do leite, sejam eles aquecimento, pasteurização ou refrigeração, não são efetivos para a inativação de resíduos de antimicrobianos no produto.

Costa (1996) e Raia Júnior (2006) afirmam que a quantidade e persistência de resíduos antimicrobianos no leite dependem de diversos fatores tais como: individualidade do animal, veículo, intervalo entre o tratamento e a ordenha, absorção, tipo de droga utilizada e sua concentração, estágio de lactação e volume de leite produzido, intensidade de infecção, excipiente, solubilidade, dose e via de administração (Quadro1).

Quadro1 – Persistência da eliminação (horas) de antimicrobianos pelo leite em função das vias utilizadas no tratamento do animal.

Vias de administração	Tempo de persistência (horas)
Oral	86
Intramuscular	72-96
Intravenosa	44
Intra-uterina	31
Intramamária	48-144

Fonte: Souza e Carneiro (2000) apud Cerqueira (2003).

Em relação à saúde pública, a presença de resíduos de antimicrobianos no leite é indesejável por várias razões, sendo as mais frequentes: ocorrência de reação de hipersensibilidade; indução de quadros patológicos, como teratogenicidade, distúrbios dentários e ósseos, carcinogenicidade e seleção de microorganismos patogênicos resistentes (COSTA, 1999).

A resistência bacteriana frente aos antimicrobianos pode ser transferida de um microrganismo para outro, dentro de uma mesma espécie ou entre espécies por um fator de resistência (fator-R) ou plasmídeo, fragmento de DNA presentes no citoplasma celular. Podem ser encontrados em todas as bactérias e atuam na resistência aos antimicrobianos de três maneiras: codificando enzimas inativadoras do antimicrobiano dentro da célula diminuindo a permeabilidade da parede celular aos antimicrobianos específicos e diminuindo a afinidade destes aos componentes celulares (FRANCO et al., 1990, MITCHELL e YEE, 1995 apud RAIÁ, 2001).

A importância econômica da presença dos resíduos antimicrobianos no leite está relacionada à interferência nos processamentos tecnológicos e industriais, levando ao surgimento de várias alterações na qualidade dos produtos lácteos. Dentre elas, tem sido observado, inibição de culturas lácteas utilizadas na fabricação de queijos e leites fermentados como: coagulação inadequada do leite e maturação inadequada de queijos levando a alterações de textura e características sensoriais; redução da produção de ácido e *flavour* durante a produção de iogurte e outros produtos fermentados; comprometimento das culturas lácteas e perdas na produção de derivados lácteos. Gerando grandes perdas econômicas (CERQUEIRA, 2003).

Em relação ao controle de resíduos biológicos, o Ministério da Agricultura, através da Instrução Normativa nº51 de 2002, que trata sobre a legislação atual do leite e seus derivados, o controle e monitoramento rotineiro de resíduos de antimicrobianos é de responsabilidades dos laticínios ou da indústria captadora. Uma vez por mês, o responsável pelos produtos oferecidos ao consumidor, deve enviar amostras de leite a uma Unidade Operacional da Rede Brasileira de Laboratórios para Controle da Qualidade do Leite (BRASIL, 2002).

2.6.1 Delvotest SP

O Delvotest SP utiliza o método de inibição microbiana para detecção de antibióticos, é apresentado em ampolas contendo meio de cultura sólido com indicador de pH e o *Bacillus stearothermophilus* var. calidolactis na forma esporulada, sendo capaz de detectando no mínimo 13 tipos de antibióticos citados no Quadro2. (BRITO, 2003).

Quadro 2 - Limite de sensibilidade (em µg/kg) do Delvotets SP para diferentes antimicrobianos.

Antimicrobianos	Delvoteste
Benzilpenicilina	3
Ampicilina	6
Amoxicilina	6
Cloxacilina	25
Ceftiofur	50
Oxitetraciclina	1000
Tylosina	50
Eritromicina	200
Espectinomicina	3000
Dihidrostreptomicina	1500
Gentamicina	200
Sulfadimidinha	150
Clorafenicol	7500

Fonte: Honkaner-Buzalski e Reybroeck (1997)

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 Localização

O projeto foi realizado em uma fazenda, localizada no município de Emas, no Sertão paraibano, de clima semiárido, distante 361 km da capital João Pessoa e 49,4 km do local das análises.



Figura1- Mapa Político Regional da Paraíba destacando o município de Emas, localizado no sertão.

3.2 Período de execução

As amostras de leite foram coletadas do início de Dezembro de 2010 a Janeiro de 2011.

3.3 Rebanho Estudado

O rebanho estudado era composto por cabras em diversas fases de lactação, os animais eram mestiços da raça Saanen, Anglonubiana e Boer; criados em um sistema semi-intensivo, passando a noite e o início da manhã presos no curral e soltos no pasto após a ordenha. Sendo a base da alimentação desses animais a pastagem nativa.

3.4 Coleta dos dados

No início das coletas foi realizado exame clínico, Teste da caneca de fundo preto, “*California mastitis Test*” (CMT) em 67 cabras, e coletadas 134 amostras de leite em tubos estéreis para realização do exame microbiológico e o antibiograma. Onze animais foram selecionados com base no isolamento de agentes bacterianos nos exames de microbiologia. Com os resultados dos exames foi estabelecido um protocolo de tratamento para os animais, onde a escolha dos antibióticos foi baseada no antibiograma. Dois tratamentos foram estabelecidos sendo os animais divididos em dois grupos onde: sete animais que receberiam tratamento com Gentamicina foram identificados com um colar vermelho e os cinco animais que seriam tratados com Oxitetraciclina receberam um colar azul.

Antes da aplicação dos medicamentos, mais uma coleta foi feita pra confirmar a ausência de antibiótico no leite das cabras.

Os animais tratados com Gentamicina (150 mg por ml) receberam meia bisnaga (5 ml) em cada teto, por três dias, e os tratados com Oxitetraciclina (contendo 200 mg de oxitetraciclina dihidratada por ml) receberam dose única de acordo com o peso sendo aplicado 1 ml para cada 10 kg de peso por via intramuscular.

Após o período de carência de 96 horas indicado pelos fabricantes, iniciou-se as coletas para identificar se houve persistência de antimicrobianos no leite das cabras. Doze dias depois da aplicação dos antimicrobianos, foi feita uma coleta para isolamento microbiológico e saber se o tratamento realizado foi eficiente.

3.5 Local de análise das amostras

As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite no campus da Universidade Federal de Campina Grande e no Laboratório de Microbiologia no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, localizado no município de Patos-PB

3.6 Coleta das amostras

Antes da ordenha os tetos dos animais, passou por uma limpeza, com uma solução contendo 50% de água e 50% de hipoclorito de sódio e seco com papel toalha, em seguida

procedeu-se exame clínico, teste da caneca e CMT, antes da aplicação dos medicamentos foi feita mais uma coleta para confirmar a ausência de antimicrobiano.

Após o período de carência de 96 horas indicado pelos fabricantes de ambos os medicamentos, foram realizadas coletas, para detectar a persistência do antibiótico; as coletas foram interrompidas quando 100% das amostras apresentaram-se negativas no Delvotest.

Após doze dias do tratamento foi realizado mais um exame microbiológico onde os tetos passaram por uma anti-sepsia com algodão embebido em álcool 70% e foram colhidas amostras de leite de cada glândula em tubos estéreis para saber se os tratamentos foram eficientes.

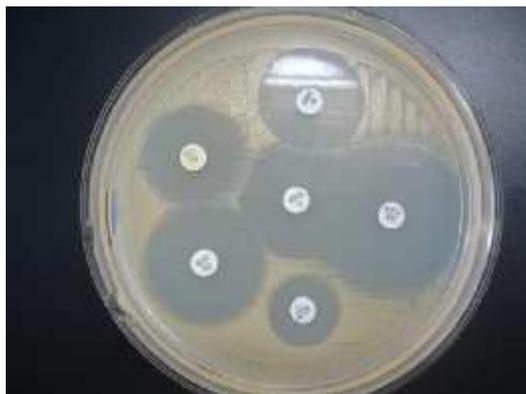
3.7 Análise microbiológica

As amostras foram semeadas com auxílio de uma alça de platina, para o cultivo em placas com meio de cultura Ágar sangue ovino 5%. As placas foram incubadas em aerobiose em estufa a 37° C sendo realizadas leituras com 24, 48 e 72 horas.

Nos micro-organismos isolados foram observadas as características macroscópicas da colônia, posteriormente sendo submetidos ao exame bacterioscópico pelo método de Gram, possibilitando estimar a identificação do gênero bacteriano.

3.8 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, a análise da sensibilidade *in vitro* dos microrganismos isolados frente aos antimicrobianos foi realizada pelo método de difusão em disco, em placas contendo meio ágar Mueller-Hinton (Clinical and Laboratory Standards Institute- Clsi, 2005). Foram utilizados discos com os seguintes antimicrobianos e respectivas concentrações: penicilina (10mg), neomicina (10mg), amoxicilina (10mg), ampicilina (10mg), ceftiofur (30mg) cefalexina (30mg), cefalotina (30mg), clorafenicol (30mg), oxacilina (01mg), gentamicina (10mg), norfloxacin (10mg), e tetraciclina (30mg). Dessa forma os antimicrobianos que mostraram-se eficientes foram selecionados para realizar o tratamento com maior segurança.



Fonte: Cavalcante (2008).

Figura 2- Prova de sensibilidade aos antimicrobianos: cepa de *Staphylococcus* spp. sensível a amoxicilina (10mg), gentamicina (10mg), oxacilina (1mg), sulfazotrim (25mg) e tetraciclina(10mg); e resistente a estreptomicina (10mg) – disco inferior ao centro.

3.9 Detecção de resíduos de antimicrobianos

As amostras de leite eram encaminhadas para o Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados, para detecção de resíduo de antimicrobianos através do Delvotest SP, que é um teste de difusão que mede a inibição do crescimento bacteriano.

Para iniciar o teste as amostras passaram por tratamento prévio, um mL de cada amostra foi incubada em banho-maria a 80° C por cerca de 5 a 10 minutos, para inativar possíveis inibidores inespecíficos (lisoenzima, lactoferrina e etc.) do leite, evitando resultados falso-positivos. Em seguida, as ampolas do Delvotest SP eram separadas e a tampa de alumínio perfurada, com uma ponteira de pipeta calibrada, adicionou-se 0,1 mililitro das amostras de leite em cada ampola; as amostras eram mantidas em banho-maria à temperatura de 64° C \pm 0,5° C por 3 horas. Depois do tempo determinado para a interpretação, observou-se a cor da parte inferior correspondente a 2/3 do ágar sólido nas ampolas. Na presença de antimicrobianos, o microrganismo é inibido e não há alteração do pH, o meio permanece azul, obtendo-se, assim, um resultado positivo para a presença de antibiótico; na ausência de antimicrobianos detectáveis pelo teste, o micro-organismo multiplica-se, acidificando o meio e alterando sua coloração que passa do azul para o amarelo, gerando um resultado negativo.



Figura 3- Adição de 0,1 mililitro de leite em cada ampola, com auxílio de uma pipeta calibrada.



Figura 4- As amostras mantidas em banho-maria à temperatura de $64^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 3 horas.

3.10 Análise dos resultados

Escores foram atribuídos às diferentes reações do CMT, sendo 0, 1, 2, e 3 para as reações, os testes Tamis e Microbiológico classificou-se os resultados em 0 ausência e 1 presença. Os valores da CCS foram transformados para a análise. Os testes de correlação entre as variáveis foram processados pelo Spearman Rank Oder Correlations gab MD pairwise Marked correlations are significant at $p < 0,05000$, também foi utilizado a estatística descritiva com os resultados expressos em valores relativos e absolutos, seguindo método descrito por Vieira (1998).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do número total do rebanho estudado que foi de 67 animais apresentaram-se positivos 07 animais no teste de Tamis, 35 no CMT, 11 no microbiológico e 30 na contagem de células Somáticas. Como pode ser observado no Gráfico 1, o que mais se aproximou do diagnóstico preciso de mastite, confirmado pelo microbiológico foi o teste do Tamis. Os outros dois CCS e CMT apresentaram percentuais elevados, indicando um resultado falso positivo. Segundo Radostits (2000), a prevalência de mastite caprina no Brasil é de 10% a 30%. Considerando o percentual de 16,41% de animais infectados como sendo a prevalência do rebanho em estudo, pode-se afirmar que este valor está dentro da média brasileira.

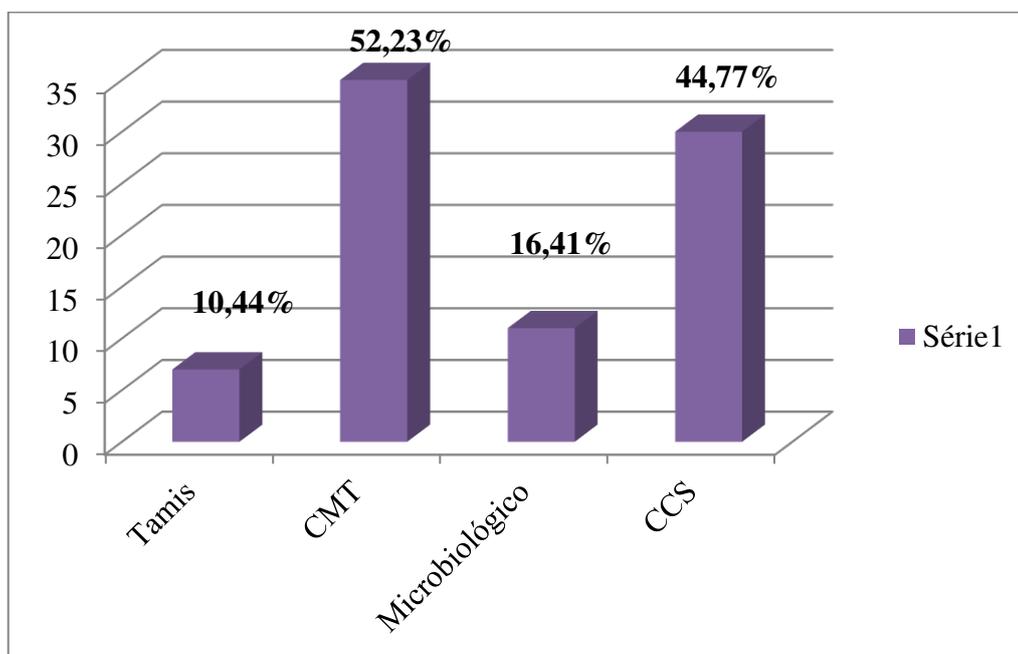


Gráfico 1- Valores percentuais e reais dos animais positivos nos testes de diagnóstico da mastite, em um rebanho localizado no município de Emas-PB, no período de 2010 e 2011.

Das 134 amostras analisadas de cada teto, 62 (46,26%) apresentaram-se positivas no CMT e somente 12 (8,95%) positivas no exame bacteriológico (Tabela 1). Estudo realizado por Castro (1997) apresenta porcentagens mais altas para o CMT e no microbiológico se comparado ao presente estudo, no CMT, das 290 amostras positivas, em cada teto, encontrou 192 (66,2%) com exame bacteriológico positivo e das 295 amostras negativas no CMT, 86 (29,1%) também apresentou crescimento bacteriológico, segundo o

autor o número relativamente alto de amostras com CMT negativo 86 (29,2%), mas positivas no isolamento bacteriano, pode ser explicado por uma eventual contaminação das amostras nas coletas, os animais poderiam estar na fase inicial do processo infeccioso ou ainda devido a menor precisão do CMT para a espécie caprina. Castro (1997) cita o trabalho de Barcelos et al (1987), que encontraram resultado semelhante ao do presente estudo, de 101 amostras de leite positivas para o CMT, em 47 houve crescimento bacteriológico. Estes autores acreditam que o grande número de amostras positivas no CMT sem isolamento bacteriano, deve-se ao fato das cabras apresentarem alta concentração de células somáticas, ocasionada pela perda de epitélio alveolar devido ao processo fisiológico. Vale lembrar que o resultado do CMT não deve ser utilizado isoladamente para diagnosticar casos de mastite, e sim deve ser associado ao cultivo bacteriológico a fim de que se tenha um diagnóstico definitivo (FOX et al., 1992).

Tabela 1- Relação entre o California Mastitis Test e Exame Bacteriológico por teto no leite de cabras, de um rebanho localizado no município de Emas-PB, no ano de 2010 e 2011.

CMT	BACTERIOLÓGICO		TOTAL
	POSITIVO	NEGATIVO	
Positivo	12 (8,95%)	50 (37,32%)	62 (46,27%)
Negativo	2 (1,49%)	70 (52,24%)	72 (53,73%)
TOTAL	14 (10,44%)	120 (89,54%)	134 (100%)

Sen= 85,71%; Esp= 58,33%

A Tabela 2 relaciona os resultados dos testes de Tamis, CMT e Microbiológico por teto. Tendo como resultado o teste de CMT positivo para 30 (44%) tetos direito e 32 (47%) positivo nos tetos esquerdos, mostrando-se com um número elevado de falsos positivos para mastite, quando comparados ao teste microbiológico que tiveram como resultados no teto direito 5 (7%) e no teto esquerdo 9 (13%). Resultado semelhante ao publicado por Neves (2010), onde, foi analisado 261 amostras de leite, sendo 105 (40,22%) positivas no CMT e apenas 30 (11,49%) positivas no exame microbiológico.

Tabela 2- Valores percentuais e absolutos para os testes de Tamis, CMT e microbiológicos dos tetos de animais em lactação, de um rebanho localizado no município de Emas-PB

	Tamis TD		Tamis TE		CMT TD		CMT TE		Micro TD		Micro TE	
	N°	%										
0	65	97	61	91	37	55	35	52	62	93	58	87
1	2	3	6	9	12	18	8	12	5	7	9	13
2					5	7	11	16				
3					13	19	13	19				
Total	67	100%										

0- Negativo para todos os testes

1- Positivo para Tamis, Microbiológico e para o CMT reação +

2- Para CMT reação ++

3- Para CMT reação +++

O trabalho de Neves (2010) confirma, o que foi encontrado nesse estudo, que o teste de CMT apresenta maior número de amostras positivas em relação ao cultivo bacteriológico, isso reforça a hipótese que o CMT não é um método confiável para o diagnóstico da mastite clínica e subclínica em cabras, apresentando elevado número de falsos positivos, além disso, o período de lactação dos animais apresenta grande influência no diagnóstico, onde pode-se observar que animais no início e fim de lactação apresentaram maior grau de reação no CMT, influenciando nos resultados. Com relação ao Tamis observou-se 3% positivos no teto direito e 9% esquerdo, detectando apenas mastite clínica, quando comparados ao microbiológico o número de animais com mastite subclínica foi superior ao encontrado pelo Tamis.

Conforme observado no Gráfico 2 das 134 amostras dos tetos para cultivo e isolamento bacteriano, dessas 14 (10,44%) apresentaram crescimento, das quais 13 (92,86%) eram do gênero *Staphylococcus* e apenas 01 *Corynebacterium* (7,14%). Segundo Radostitis (2000) o agente mais comum encontrado na mastite caprina é *Staphylococcus*, ele ainda cita outros agentes com potencial patogênico para espécie caprina como: *Pseldomonas* ssp. *Streptococcus*, *Arcanobacter pyogenes*, *Bacillus coagulans*, *Klebsiela pneumoniae*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, entre outros Trabalho realizado por Tonin; Nader Filho (2005), demonstra que, das 195 amostras estudadas, 66 (33,8%) foram positivas ao isolamento bacteriano, das quais os *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCN) foram identificados em 61 (92,4%) e os

Staphylococcus coagulase-positivos (SCP) nas 05 amostras restantes (7,6%). Resultado semelhante ao encontrado por Neves 2010, que além de identificar os SCN e SCP isolou a espécie *aureus*, reforçando que este agente é o mais comum na mastite caprina. Alguns estudos com infecção experimental vêm demonstrando o potencial patogênico de micro-organismos relevantes, a exemplo do *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que é responsável pelo desencadeamento da enfermidade e pela manifestação de quadros agudos, acompanhados de alterações no leucograma (PINHEIRO Jr. et al. 2006 apud PEIXOTO 2010).

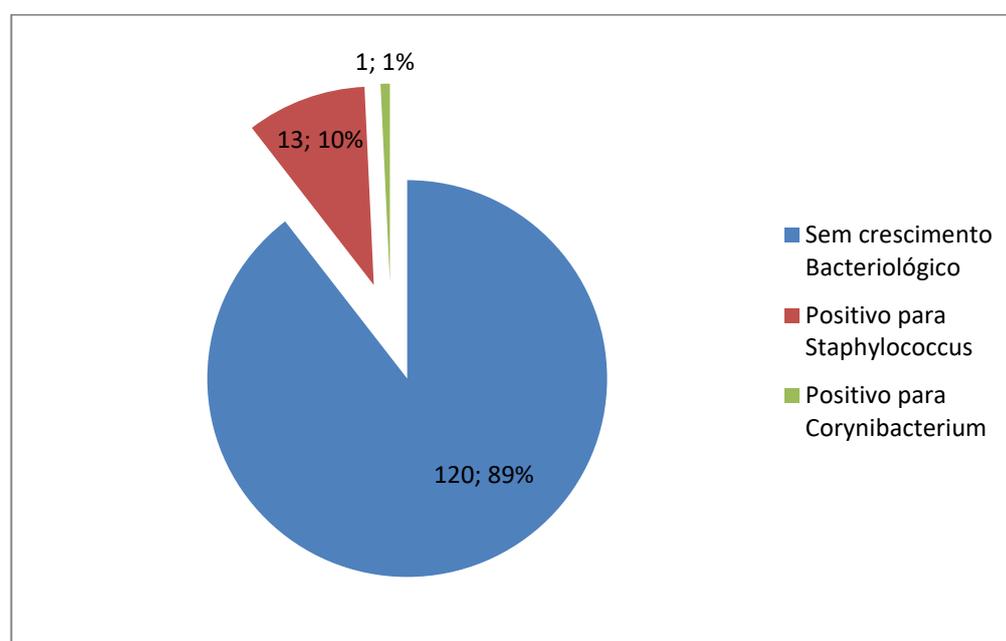


Gráfico 2- Valores percentuais e absolutos do número total de tetos sem crescimento bacteriológico, positivos para crescimento de *Corynebacterium* e *Staphylococcus*, de um rebanho localizado no município de Emas- PB no ano de 2010 e 2011.

Na Tabela 3, encontrou-se uma correlação positiva entre o CMT e CCS, com alto grau de significância, demonstrando que o CMT foi eficiente na detecção de células somáticas, os resultados do CMT e CCS não podem ser usados isoladamente no diagnóstico de mastite caprina, pois esses animais apresentam fisiologicamente valores altos de células somáticas, devido ao tipo de secreção apócrina, que também são modificados dependendo do estágio de lactação, da idade do animal. Muitas variações não se devem a infecção intramamária. Sugere-se um limite fisiológico de $5,0 \times 10^5$ células/mL (RADOSTITS, 2000). A legislação de leite de cabra não estabelece um padrão para CCS. De acordo com o estudo desenvolvido por SILVA (2001) a análise dos dados mostrou

correlação positiva e significativa ($p < 0,05$) de $r = 0,63$, entre o CMT e a CCS. Quando o CMT e a CCS foram correlacionados com a produção de leite (PL), observou-se correlação negativa e significativa ($p < 0,05$) para ambas as variáveis, com coeficientes de $r = -0,27$ e $-0,28$, respectivamente. Segundo Barcellos e et al., (1987) apud TONIN, (2005), a exatidão do CMT é duvidosa na espécie caprina devido à presença de células epiteliais que, juntamente com os leucócitos, reagem ao teste causando uma interpretação diferente da usada para bovinos.

Tabela 3-Nível de correlação e significância existente entra a CCS e CMT, do leite de cabras de um rebanho no município de Emas-PB, no ano de 2010 e 2011.

		r	p
CCS	CMT TD	0,69674	0,000000
CCS	CMT TE	0,71856	0,000000

r – Nível de Correlação

s – Nível de Significância

Na Tabela 4 observa-se as amostras com crescimento bacteriano que foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos, apresentando resistência a: Penicilina, Ampicilina, Clorafenicol, Oxacilina, sendo estes os mais utilizados em terapêutica veterinária e foram sensíveis a: Tetraciclina, Cefalotina, Neomicina, Gentamicina, Cefitoxina, Cefalexina, Ceftiofur. E apresentou reação intermediária a Norfloxacin.

Tabela 4- Resultado de antibiograma de cultura do *Staphylococcus* e *Corynebacterium*, isolados em animais com mastite clínica e subclínica, de um rebanho localizado no município de Emas-PB no ano de 2010 e 2011.

Antibióticos	Nível de sensibilidade		
	Resistente	Sensível	Intermediário
Penicilina	+	-	-
Tetraciclina	-	+	-
Cefalotina	-	+	-
Neomicina	-	+	-
Ampicilina	+	-	-
Norfloxacin	-	-	+
Gentamicina	-	+	-
Cefitoxina	-	+	-
Clorafenicol	+	-	-
Oxacilina	+	-	-
Cefalexina	-	+	-
Ceftiofur	-	+	-

Costa (1986), já encontrava bactérias com resistência a Penicilina, estreptomicina e eritromicina, sendo o clorafenicol, bactrim e furadantina efetivo contra as bactérias causadoras de mastite bovina, este chegou a conclusão que o tratamento de mastite bovina quando se utiliza apenas uma droga, jamais atingirá uma percentagem considerável de eficiência contra o universo populacional das bactérias causadoras da mastite.

Neves (2009) obteve na maioria das amostras resultado de sensibilidade aos antimicrobianos testados, sendo a kanamicina o antimicrobiano que apresentou maior efetividade, porém não é comum encontrar esse antimicrobiano em forma de produto comercial para o tratamento da mastite. A gentamicina, o cefquinona, o florfenicol e o NBT (neomicina, bacitracina e tetraciclina) apresentaram boa efetividade frente aos isolados, acima de 90%. Amoxicilina e a enrofloxacin também apresentaram boa eficácia.

Alguns fatores concorrem para a redução da eficiência dos antimicrobianos, entre eles: uso indiscriminado ou inadequado de antimicrobianos sem prescrição nem orientação médica, subdoses, a não realização do antibiograma, administração de uma droga ou dosagem errada, o não respeito ao protocolo do tratamento, os antimicrobianos usados em ração animal, essa pratica seleciona organismos resistentes nos animais, podendo contribuir com organismos resistentes em seres humanos (LEVISON e JAWETZ, 2005).

A Tabela 5 mostra as coletas realizadas após o período de carência dos antimicrobianos, evidenciando a persistência do medicamento por mais 48 horas após o período de carência em 3 animais (27,27%) (02, 03, 08), dentro dos 11 tratados. Sendo que no animal 02 o teste permanece no limite de detecção por mais de 96 horas. As coletas só foram interrompidas quando 100% dos animais apresentaram-se negativos ao Delvotest SP.

Tabela 5- Resultado do Delvotest, mostrando a persistência dos resíduos de antimicrobianos, no leite de cabras com mastite, de um rebanho no município de Emas-PB, no ano de 2010 e 2011, tratadas com Gentamicina e Oxitetraciclina, após o período de carência de 96 horas.

		DELVOTEST						
Animal	Medicamento	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
1	GENTAMICINA	-	-	-	-	-	-	-
2	GENTAMICINA	+	+	*	*	*	*	-
3	OXITETRACICLINA	+	+	-	-	-	-	-
4	OXITETRACICLINA	-	-	-	-	-	-	-
5	OXITETRACICLINA	-	-	-	-	-	-	-
6	GENTAMICINA	-	-	-	-	-	-	-
7	OXITETRACICLINA	-	-	-	-	-	-	-
8	OXITETRACICLINA	-	-	-	-	-	-	-
9	GENTAMICINA	+	+	-	-	-	-	-
10	GENTAMICINA	-	-	-	-	-	-	-
11	GENTAMICINA	-	-	-	-	-	-	-

+ Positivo

- Negativo

* No limite de detecção

O Gráfico 3 mostra a persistência de Gentamicina e Oxitetraciclina após o período de carência, nos animais tratados. Nardelli (2008) encontrou resíduos de antimicrobianos em duas usinas de leite de cabra na Paraíba, oriundos provavelmente de falhas existentes na administração dos antimicrobianos, a mastite foi à única causa encontrada para a utilização destes medicamentos. Em pesquisa realizada por Raia (2001), observa-se resultados referentes à avaliação da persistência de resíduos no leite de vacas com mastite clínica, tratadas pela via sistêmica com penicilina e diidroestreptomicina e associação de sulfadiazina e trimetopim. Observaram-se em ambos os casos persistência de resíduos, além do período de carência, sendo 52,4% em relação ao primeiro tratamento e 60% ao

segundo tratamento, utilizou também antimicrobiano intramamário a base de cefacetril, que detectou resíduo em 18, 75% das amostras após o período de carência.

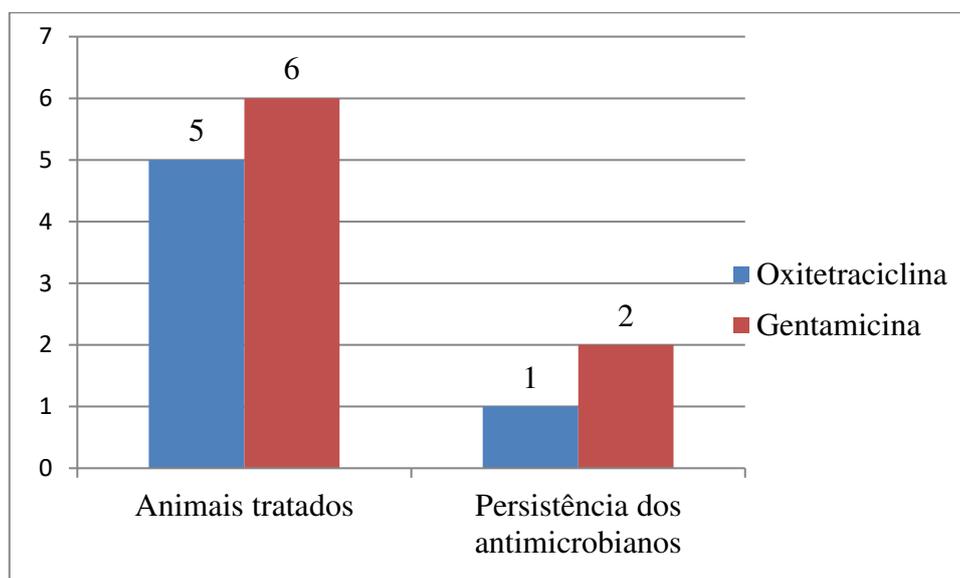


Gráfico 3- Valor real da persistência de Gentamicina e Oxitetraciclina após o período de carência, nos animais tratados no município de Emas-PB, no período de dezembro de 2010 a janeiro de 2011.

Vários fatores influenciam na persistência dos antimicrobianos no leite como: individualidade do animal, veículo, intervalo entre o tratamento e a ordenha, absorção, tipo de droga utilizada e sua concentração, estágio de lactação e volume de leite produzido, intensidade de infecção, solubilidade, dose e via de administração (COSTA, 1996).

Na Tabela 6 encontra-se os valores percentuais da persistência do antimicrobiano, entre as vias utilizadas para os tratamentos, com gentamicina foi a via intramamaria (33,33%) e a oxitetraciclina utilizou a via sistêmica (20%). Raia Júnior (2006), avaliou a influência das vias de administração, sobre a presença de resíduos no leite após o período de carência, encontrou diferenças estatisticamente significativas de resíduos de antimicrobianos nas glândulas tratadas. Em ambas as vias intramamaria e sistêmicas encontrou uma persistência de 76,7%, enquanto os animais que foram tratados só pela via intramamaria apresentou resíduo em 41,9% e os que receberam tratamento sistêmico o antimicrobiano persistiu em 31,7%.

Tabela 6- Persistência de resíduo antimicrobiano de Oxitetraciclina administrado por via intramuscular e Gentamicina intramamária, após o período de carência (96 horas) no leite de cabras em lactação de um rebanho.

Vias de administração	Nº de Animais	Persistência do Antibiótico			
		Positivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%
Intramamário	6	2	33,33	4	66,66
Intramuscular	5	1	20	4	80

Foi realizado após doze dias de tratamento, outro exame microbiológico, para saber se houve eficiência dos medicamentos, o resultado encontrado pode ser observado na Tabela 7.

Tabela 7- Eficiência dos antimicrobianos Oxitetraciclina e Gentamicina, após 12 dias do tratamento das cabras com mastite, em um rebanho localizado no município de Emas-PB, no ano de 2010 e 2011.

Eficiência dos Antimicrobianos		
Animal	Gentamicina	Oxitetraciclina
1	1	-
2	1	-
3	-	1
4	-	0
5	-	0
6	0	-
7	-	0
8	-	0
9	0	-
10	0	-
11	0	-

0- Sem infecção

1- Infectado

Verifica-se que os animais podem ter sofrido uma reinfeção, ou o tratamento não foi eficiente, uma vez que 33,33% dos animais tratados com gentamicina e 20% com oxitetraciclina, apresentaram crescimento bacteriano após o tratamento.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No rebanho estudado os teste de CMT e CCS apresentaram elevados número de amostras com resultados falso positivo, sendo os agentes isolados *Staphylococcus* e *Corynebacterium*, apresentaram resistência aos seguintes antimicrobianos: penicilina, ampicilina, clorafenicol, oxacilina. No monitoramento da persistência de resíduos foi observado que tanto a gentamicina como a oxitetraciclina apresentaram persistência de resíduos após o período de carência indicados nas bulas, podendo ocasionar perigos a saúde pública e prejuízos a indústria de laticínios.

O presente trabalho mostra a importância da realização de mais pesquisas que possam desenvolver testes diagnósticos para mastite caprina mais específicos, pois os testes adaptados dos bovinos não refletem a realidade dos caprinos, estes animais possuem características próprias tanto na fisiologia, quanto na excreção do leite, que desfavorecem a utilização dos mesmos. Assim os animais serão tratados corretamente quando necessário.

Ressaltando a importância do teste microbiológico como confirmatório da infecção e na identificação do agente causador da mastite e a sua sensibilidade frente aos antimicrobianos, favorecendo a escolha do medicamento adequado, pois a mastite é apontada como principal motivo que acarreta a presença de antimicrobianos no leite, prejudicando a saúde pública, conferindo resistência dos microorganismos e dos prejuízos econômicos as indústrias de laticínios que o uso indiscriminado de medicamentos pode provocar. Dessa forma deve-se conscientizar os veterinários, os técnicos e criadores da importância de respeitar o período carência dos antimicorbianos.

6. REFERÊNCIAS

- ALBRIGHT, J.L.; TUCKEY, S. L.; WOODS, J.T. Antibiotics in milk. A Review. **J. Dairy Sci**, v.44, n. 5, p.779-887, 1961.
- ANDERSON, D. E.; HULL, B. L. ; PUGH, D. G. Enfermidades da glândula mamária . In : PUGH, D. G. **Clínica de Ovinos e Caprinos** . 1. ed. São Paulo : Roca , 2005. p. 379-399.
- ANDRADE P.V.D.; SOUZA M.R.; BORGES, I.; PENNA, C.F.A.M. Contagem de células somáticas em leite de cabra. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v.53 n.3 Belo Horizonte jun. 2001.
- BARCELLOS, T. F. S., SILVA, N., MARQUES JÚNIOR, A. P. Mastite caprina em rebanhos próximos à Belo Horizonote - Minas Gerais. I - Etiologia e sensibilidade a antibióticos. II - Métodos de diagnóstico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.39, n.2, p. 307-315, 1987.
- BAUER, A. W. ; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, I.C. ; TURCK, M. Ant ib iot ics suscept ib i l ity t es t ing by s tandardized s ingle disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493 - 496, 1966.
- BRADESPIN, F. B. **Características físico-químicas e celulares na secreção láctea de caprinos da raça Saanen durante o processo de secagem da glândula mamária**. 2007, 157 f . Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Métodos De Análise Microbiológica Para Alimentos**. Brasília. 2ª revisao. 1991/1992. Disponível em: < <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao> >. Acesso em: 05 de dezembro de 2010.
- BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa nº37, de 31 de outubro de 2000. **Regulamento Técnico de Produção, Identificação e Qualidade do leite de cabra**. Brasília, 2000.
- BRITO, m.a.v.p. Normas institucionais e exigências do Codex Alimentarius e comparação entre blocos comerciais sobre a adoção de testes para detecção de resíduo de antibióticos no leite. *In: Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para indústria e a questão de resíduos de antibióticos*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Epamig/CT/ILCT, 2003. 1 ed. 168p
- CAVALCANTE, M. P. **Mastite Caprina: Etiologia Bacteriana e Sensibilidade aos Antimicrobianos**. 2008. 103f. Dissertação. Universidade Federal da Bahia. Universidade Federal da Bahia.2008
- CERQUEIRA, M.M.O.P. **Resíduos de drogas veterinárias no leite e suas repercussões em saúde pública**. In: Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, V., 2003, Recife. **Anais do Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária**. Recife: SPEMVE, p.31- 41, 2003.

CHAPAVAL, L.; PEREIRA, V. M. A.; SOUSA, A. P. B.; MIRANDA, K. P. MAGALHÃES, D. C. T. **Cultura, Crescimento e Identificação de Bactérias do Gênero *Staphylococcus aureus* em Leite de Cabra.** Embrapa Sobral, CE, 2009.

CHYE, F.Y.; ABDULLAH, A.; AYOB, M.K. **Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia.** *Food Microbiology*, v.21, n.5, p.535-541, 2004.

CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; CORRALES, J. C.; SÁNCHEZ, A.; MARCO, J. Physiological threshold of somatic cell count and California Mastitis Test for diagnosis of caprine subclinical mastitis. **Small Ruminant Research**, v. 21, n. 3, p. 259-264, 1996.

CONTRERAS, A. et al. Diagnostico indirecto de las mamitis caprinas. **Tratado de patologia y producción ovina: Mamitis caprinas II**, n.54, p.25-36, 1998.

CONTRERAS, A. ; SIERRA, D. ; SÁNCHEZ, A. ; CORRALES, J . C.; MARCO, J . C.; PAAPE, M. J . ; GONZALO, C. Mas t it is in small ruminant s . **Small Ruminant Research**, v.68, p.145-153, 2007

CORREA, F. R.; SCHILD A. L., MÉNDEZ, M. C.; LEMOS, R. A. A et al. **Doenças de ruminantes e eqüinos.** São Paulo: Livraria. Varela, 2001. Vol. I, 426 p.

COSTA, A.L. **Leite Caprino: um novo enfoque de pesquisa.** 2008. Embrapa Caprinos. Disponível em:<<http://www.cnpq.embrapa.br/artigo4.htm>>. Acesso em 14 de janeiro de 2011.

COSTA, E. O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A. R.; VIANI, F. C.; WHITE, C. R. Dinâmica da resistência de agentes etiológicos da mastite bovina aos antimicrobianos. **Revista Brasileira Veterinária**, Niterói, v.7, p. 260-263, 1995.

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

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista Educ. Continuada.** São Paulo, v.1, n.1, p. 3-9, 1998.

COSTA, E. O., RAIA, R. B., GARINO F. Jr., WATANABE, E. T., RIBEIRO, A. R., GROFF, M. R. Presença de resíduo de antibiótico no leite de pequena mistura de propriedades leiteiras. **Revista Napgama**, São Paulo, v.2, n.1, p. 10-13, 1999.

COSTA, E. O.; RAIA, R. B.; GARINO F. Jr.; COELHO, V. Influência do tratamento intramamário de casos de mastite de bovinos em lactação em relação a presença de resíduos de anti microbianos no leite dos quartos sadios não tratados. **Revista Napgama**, São Paulo, v.3, n.4, p. 14-17, 2000.

COSTA, E. O. Uso de ant imicrob ianos na mas t ite . In: SPINOSA, H. S., GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI , M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária** . 3.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2002. c.42, p.443-455.

COSTA, R. R.; CARVALHO FILHO, F. D. e ANDRADE, M. A. **Revista Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiás, v. 16, n.1 1986.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite . In: SPINOSA, H. S., GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária** . 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. c.42, p.443-455.

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.

DIETRICH J. M. Controle do Resíduo de Antibióticos no Leite. 2008. Disponível em: <www.globalfood.com.br/sites/ arquivos/Residuos_Antibioticos_07_08.pdf> Acesso em: 15 de dezembro de 2010.

DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T. J. **Food microbiology – Fundamentals and frontiers**. Washington, DC, (USA): ASM, 1997. p.171-191.

FAGUNDES H. e OLIVEIRA C.A.F.. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural** 34 n4,p1315-1320. 2004.

FAGUNDES, C. M. **Inibidores e controle de qualidade do leite**. Pelotas: Editora Universitária/ UFPel, 1997.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. 1ºed. São Paulo. Lemos Editor ia l. 2000. 175 p.

FOX, L. K., HANCOCK, D. D., HORNER, S. D. Selective intramammary antibiotic therapy during the nonlactating period in goats. **Small Ruminant Research** , v.9, p. 313-318, 1992.

FRANCO, D. A.;WEBB, J., TAYLOR, C. E. Antibiotic and sulfanamide residues in meat implications for human health. **J. Food Prot.**, Des Moines, v. 53, n.3, p. 178-185, 1990.

GUIMARÃES M.P.M.P., Clemente W.T., Santos E.C., Rodrigues R. 1989. Caracterização de alguns componentes celulares e físicoquímicos do leite para diagnóstico da mamite caprina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 41: 129-142.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEORAFIA E ESTATISTICA –IBGE. **Pesquisa Pecuária**. 2009. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 15 dezembro 2010.

KATZ, S.E.; BRADY, M.S. Antibiotic residues in food and their significance In: **Antimicrobials in foods**. 2 ed., Davidson, P. M., Branen. A. l. 1993, cap. 16, New York, Marcel Dekker, Inc.

LANGONI, H.; TONIN, F. B.; CABRAL, K. G.; CAVALIERO, M. J.; Tratamento da mastite bovina com a associação ampicilina+cloxacilina (Bovigan L). **Revista Nappama**, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 21-23, 1999.

Manual Merck de Veterinária. 1997. Editora Roca Multimídia, 7ª edição. p.837-838.

MEDIROS, L. P. et al. Caprinos – Princípios básicos para sua exploração. Brasília: EMBRAPA – SPI, p.177, 1994.

MITVHELL, M. J.; YEE, A. J. Antibiotic use in animals and transfer of drug resistance to humans: should we stop treating animals with these drugs? **Dairy Food Environ. Sanit.**, Ames, v. 15, n. 8, p. 484- 487, 1995.

NARDELLI, M.J. **Resíduos antimicrobianos e suas causas no leite de cabra in natura produzido em municípios do semi-árido paraibano.** 2008 131f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de Ruminantes e Equídeos) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos.

NEVES, P.B. **Mastite subclínica em cabras no Estado da Paraíba. Ocorrência, etiologia, susceptibilidade antimicrobiana e fatores de risco.**2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de Ruminantes e Equídeos). Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2009.

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.

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

RADOSTITS, O. M; GAY, C. C. ; BLOOD, D. C. ; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária – Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos , Suínos , Caprinos e Equinos .** 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. c. 4, 15-20, p.137-140, 541-870.

RAIA, R. B.; COSTA, E. O.; GARINO JUNIO, F.; WATANABE, E. T.; THIERS, F. O.; GROFF, M. R. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após o tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **Revista NAPGAMA**, São Paulo, v.2, n. 1, p. 4-8, 1999.

RAIA, R. B. Jr. **Influência da mastite na ocorrência de resíduo de antimicrobianos no leite.** 2001. 78p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.

RAIA, R. B. Jr. **Fatores fisiológicos, clínicos e farmacológicos, determinantes de resíduos de antimicrobiano no leite, avaliados em protocolos terapêuticos de mastite em bovino leiteiros.** 2006. 85p. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.

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

ROTA, A. M.; ROJAS, A.; MARTÍN, L.; RODRÍGUEZ, P.; TOVAR, J. J. Uso de la prueba de California para la detección de mastitis en el ganado caprino. **Avances en Alimentación y Mejora Animal**, v. 2, n. 34, p. 67-69, 1994

SANTOS, M. V. Influência de resíduos de antibióticos sobre a qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das células somáticas. Cap. 12, p. 139-149 In: Brito J.R.F.; Portugal, J.A.B. **Diagnóstico da qualidade do leite , impacto para indústria e questão dos resíduos de antibióticos**. Embrapa gado de leite, Juiz de Fora, 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. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 46-48, 2001.

SILVA, E. R. ; BOECHAT, J . U. D. ; SILVA, N. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from goat mastitis in Brazilian Dairy Herds. **Letters in Applied Microbiology**, v.42, p.30-34, 2006.

SIMPLICIO, A.A.; WANDER, A. Organização e gestão da unidade produtiva na caprino ovinocultura. In: Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, V., 2003, Recife. **Anais do Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária**. Recife: SPEMVE, p.177-187, 2003.

SINN, R.; KETZIS, T.; CHEN, T. The role of woman in the sheep and goat sector. Article. **Small Ruminant Research**, v.34, i.3, p.259-269,1999.

SOUZA, S.; BENEDET, H.D. Estudos da qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado numa indústria de Santa Catarina. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.5, n.1, p.26-32, 1988.

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

TONIN F. B.; NADER FILHO A. Correlação entre o “California Mastitis Test” e o exame bacteriológico no leite de cabras. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, SP, Vol. 21, p155-159, 2005.