

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

Natanael de Souza Silva

Agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes: revisão sistemática com metanálise,  
isolamento do agente etiológico e sua influência na qualidade do leite de cabras em condições  
semiáridas

Patos/PB  
2020

Natanael de Souza Silva

Agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes: revisão sistemática com metanálise,  
isolamento do agente etiológico e sua influência na qualidade do leite de cabras em condições  
semiáridas

Tese apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e Saúde  
Animal, da Universidade Federal de  
Campina Grande, como requisito  
parcial para obtenção do título de  
Doutor em Ciência e Saúde Animal.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marcia Almeida de Melo  
Coorientador: Prof. Dr. Edisio Oliveira de Azevedo

Patos/PB  
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

S586a Silva, Natanael de Souza

Agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes: revisão sistemática com metanálise, isolamento do agente etiológico e sua influência na qualidade do leite de cabras em condições semiáridas. / Natanael de Souza Silva. – Patos, 2021.

62f.

Tese (Doutorado em Ciência e Saúde Animal) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2021.

“Orientação: Profª. Dra. Márcia Almeida de Melo.”

“Coorientação: Prof. Dr. Edisio Oliveira de Azevedo”

Referências.

1. Agalaxia contagiosa. 2. Caprinos leiteiros. 3. *Mycoplasma agalactiae*. I. Título.

CDU 619



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL  
Rua Aprígio Veloso, 882, - Bairro Universitário, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

## FOLHA DE ASSINATURA PARA TESES E DISSERTAÇÕES

NATANAEL DE SOUZA SILVA

AGALAXIA CONTAGIOSA EM PEQUENOS RUMINANTES: REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE, ISOLAMENTO DO AGENTE ETIOLÓGICO E SUA INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DO LEITE DE CABRAS EM CONDIÇÕES SEMIÁRIDAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal como pré-requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência e Saúde Animal.

Aprovada em: 28/12/2020

### BANCA EXAMINADORA:

Profª. Dra. Marcia Almeida de Melo (Orientadora - PPGCSA/UFG)

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo (Examinador Interno - PPGCSA/UFG)

Profª. Dra. Ana Cláudia Campos (Examinadora Externa - UFS)

Profª. Dra. Melânia Loureiro Marinho (Examinadora Externa - UFS)

Profª. Dra. Nara Geanne de Araújo Medeiros (Examinadora Externa - UFG)



Documento assinado eletronicamente por **MARCIA ALMEIDA DE MELO, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 02/02/2021, às 17:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018.



Documento assinado eletronicamente por **MELANIA LOUREIRO MARINHO, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 05/02/2021, às 14:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018.



Documento assinado eletronicamente por **NARA GEANNE DE ARAUJO MEDEIROS, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 05/02/2021, às 10:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018.



Documento assinado eletronicamente por **SERGIO SANTOS DE AZEVEDO, COORDENADOR (A)**, em 05/02/2021, às 10:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador 1241639 e o código CRC CDE950A2.

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
RESUMO.....	05
ABSTRACT.....	06
INTRODUÇÃO GERAL.....	07
REFERÊNCIAS.....	10
CAPÍTULO I: Aspectos epidemiológicos, clínicos, e diagnósticos da agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes: revisão sistemática e metanálise.....	12
INTRODUÇÃO.....	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO II: Estudo etiológico para agalaxia contagiosa em condições semiáridas.....	35
INTRODUÇÃO.....	37
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS.....	41
CAPÍTULO III: Efeito da micoplasmose e mastite subclínica no perfil celular e composição química do leite caprino.....	45
INTRODUÇÃO.....	47
MATERIAL E MÉTODOS.....	48
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	57
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62

## RESUMO

A agalaxia contagiosa apresenta distribuição mundial, tendo como principal agente etiológico o *Mycoplasma agalactiae*, afetando principalmente caprinos devido à utilização dessa espécie para produção leiteira. A tríade sintomatológica característica da enfermidade constitui no desenvolvimento de agalaxia, artrite e conjuntivite. Objetivou-se com este trabalho realizar uma revisão sistemática com metanálise sobre agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes, identificar os etiológicos causadores de mastites em rebanhos de cabras leiteiras e avaliar a influência das infecções por *Mycoplasma* spp. e por bactérias convencionais causadoras de mastite subclínica sobre a qualidade do leite caprino. O primeiro capítulo é composto por uma revisão sistemática com metanálise. O estudo foi conduzido com base nas recomendações metodológicas de PRISMA: os itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análises. Observou-se uma prevalência combinada de 10,46% com alta heterogeneidade para os grupos caprinos e ovinos, demonstrando a necessidade de pesquisas epidemiologicamente embasadas, visando evitar resultados heterogêneos. O segundo capítulo objetivou realizar um estudo etiológico para agalaxia contagiosa em rebanhos de cabras leiteiras em condições semiáridas nos estados da Paraíba e Pernambuco, região Nordeste do Brasil. Foram utilizadas 207 cabras lactantes, totalizando 414 amostras de leite oriundas de 30 rebanhos assintomáticos e 90 amostras de três rebanhos com casos clínicos da doença. Os cultivos positivos foram submetidos a PCR com iniciadores específicos para *M. agalactiae*, *M. mycoides* Cluster e *M. putrefaciens*. Das amostras analisadas 34,54% (143/414) apresentaram crescimento bacteriológico, destas 59,44% (85/143) foram positivas para *Ma*, o *Mm<sub>cluster</sub>* e *Mp* não foram detectados. Para realização do terceiro capítulo, foram utilizados os 30 rebanhos descritos anteriormente para realização do segundo capítulo. Buscou-se avaliar o impacto da micoplasmose e de bactérias convencionais causadoras de mastite subclínica sobre os parâmetros de qualidade do leite caprino. Observou-se coinfeção por *Mycoplasma* spp. e bactérias convencionais mastite subclínica em cabras leiteiras na região Nordeste do Brasil. A mastite subclínica influenciou diretamente na contagem de células somáticas, representando uma ferramenta valiosa para monitoramento de infecções no úbere de cabras. Por outro lado, infecções por *Mycoplasma* spp. influenciou nos valores sólidos totais, entretanto, o sinergismo entre os agentes convencionais da mastite subclínica e *Mycoplasma* spp. provocam diminuição nos percentuais de proteína, sólidos totais, extrato seco desengordura e caseína, demonstrando maior impacto econômico nas infecções mistas ocasionadas por esses agentes.

## ABSTRACT

Contagious agalactia has a worldwide distribution, with *Mycoplasma agalactiae* as the main etiological agent, affecting mainly goats due to the use of this species for dairy production. The characteristic symptomatological triad of the disease is the development of agalactia, arthritis and conjunctivitis. The objective of this work was to carry out a systematic review with meta-analysis on contagious agalactia in small ruminants, to identify the etiological causes of mastitis in dairy goats and to evaluate the influence of infections by *Mycoplasma* spp. and by conventional bacteria causing subclinical mastitis on the quality of goat milk. The first chapter consists of a systematic review with meta-analysis. The study was conducted based on the methodological recommendations of PRISMA: the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses. A combined prevalence of 10.46% was observed, with high heterogeneity for the goat and sheep groups, demonstrating the need for epidemiologically based research to avoid heterogeneous results. The second chapter aimed to carry out an etiological study for contagious agalactia in dairy goat herds in semi-arid conditions in the states of Paraíba and Pernambuco, Northeast region of Brazil. A total of 207 lactating goats were used, totaling 414 milk samples from 30 asymptomatic herds and 90 samples from three herds with clinical cases of the disease. Positive cultures were subjected to PCR with specific primers for *M. Agalactiae* (Ma), *M. mycoides* Cluster (Mmcluster) and *M. Putrefaciens* (Mp). Of the analyzed samples, 34.54% (143/414) showed bacteriological growth, of which 59.44% (85/143) were positive for Ma, Mmcluster and Mp were not detected. To carry out the third chapter, the 30 herds described above were used to carry out the second chapter. The aim was to evaluate the impact of mycoplasmosis and conventional bacteria causing subclinical mastitis on goat milk quality parameters. Coinfection by *Mycoplasma* spp. and conventional bacteria subclinical mastitis was observed in dairy goats in the Northeast region of Brazil. Subclinical mastitis directly influenced somatic cell counts, representing a valuable tool for monitoring goat udder infections. On the other hand, infections by *Mycoplasma* spp. However, the synergism between conventional agents of subclinical mastitis and *Mycoplasma* spp. cause a decrease in the percentages of protein, total solids, defatting dry extract and casein, demonstrating a greater economic impact on mixed infections caused by these agents.

## INTRODUÇÃO GERAL

A agalaxia contagiosa (AC) tem como principal agente etiológico o *Mycoplasma agalactiae* (*Ma*). Outras espécies podem estar envolvidas como o *M. mycoides* cluster (*Mm<sub>cluster</sub>*), que contempla cinco espécies e subespécies de micoplasmas que compartilham características genótípicas e fenótípicas, entre estes, quatro estão descritos como agentes etiológicos da AC (*M. mycoides* subsp. *mycoides* small colony (*Mmm<sub>SC</sub>*), *M. mycoides* subsp. *mycoides* large colony (*Mmm<sub>LC</sub>*), *M. mycoides* subsp. *capri* (*Mmc*), *M. capricolum* subsp. *capricolum* (*Mcc*) e *Mycoplasma putrefaciens* (*Mp*) (ABTIN *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2014).

A AC acomete pequenos ruminantes, em especial caprinos devido a sua utilização para produção leiteira, tendo como sintomatologia a presença de mastite e ou agalaxia, artrite e conjuntivite; esporadicamente são observados casos de aborto, pneumonia e transmissão transplacentária (AZEVEDO *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2013; 2014). Apesar da transmissão venérea ter sido sugerida por Gil *et al.* (2003), Amores *et al.* (2010) e Gómez Martín *et al.* (2012), os dados são escassos, apesar de ter sido constatado a presença de bactérias do gênero por isolamento e pela reação em cadeia da polimerase (PCR) de *swabs* vaginais e sêmen, respectivamente (ALVES *et al.*, 2013; MORAES *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018).

Em geral, a AC é transmitida por via oral, respiratória e mamária. A replicação ocorre na mucosa do trato respiratório, intestino delgado e alvéolos das glândulas mamárias, disseminando-se pela circulação para diferentes órgãos vitais, como pulmões, linfonodos, olhos, glândulas mamárias, articulações e tendões, produzindo vários sinais clínicos. Nas glândulas mamárias, causa a inflamação que, por fim, se transforma em mastite catarral ou parenquimatosa, levando à atrofia e agalaxia. Em geral, lesões pulmonares são observadas, embora surtos de pleurisia em cabras, com isolamento de micoplasma, tenham sido relatadas. As articulações, com acúmulo de fluídos sinoviais, leva à artrite, principalmente nas articulações do carpo e do tarso. Afecções oculares causam graves perdas de córnea, levando à cegueira por meio de vascularização e ceratoconjuntivite. Afecções dos órgãos genitais também são observadas com abortos ocasionais ou natimortos em animais gestantes, principalmente devido à inflamação do útero. Nos animais machos, pode produzir inflamação testicular (KUMAR *et al.*, 2014).

A infecção da glândula mamária causa alterações na composição química do leite, associada ao aumento da contagem de células somáticas (CCS), que segundo Pereira *et al.* (1999) ocorreriam da seguinte maneira: a) a porcentagem de gordura normalmente é



diminuída, no entanto, caso haja redução mais pronunciada da produção de leite do que de gordura, aumentará a concentração deste componente; b) a porcentagem de proteína é aumentada; c) as porcentagens de lactose e sólidos totais são reduzidas, como também dos componentes encontrados em menores concentrações, como os minerais e as enzimas . Segundo Machado *et al.* (2000), a mastite altera a composição do leite por modificar a permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula e alterar o processo de filtragem e síntese do tecido secretor pela ação direta dos patógenos ou de suas enzimas sobre os componentes já secretados em seu interior (KITCHEN, 1981; PEREIRA *et al.*, 1999; PRADA e SILVA *et al.*, 2000; SANTOS, 2002; PIRISI *et al.*, 2007).

O primeiro relato da AC no Brasil ocorreu em 2001. A ocorrência de sinais clínicos em caprinos de um mesmo rebanho no estado da Paraíba resultou na suspeita de AC causada por *M. agalactiae*, até então exótica no país, que se estendeu para os estados de Pernambuco e Rio Grande do Norte (AZEVEDO *et al.*, 2006). A identificação foi realizada por isolamento, por imunoperoxidase indireta e pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

Desde seu diagnóstico, a AC se mantém endêmica na região Nordeste do Brasil, em especial nos estados da Paraíba e Pernambuco com uma prevalência elevada entre os rebanhos caprinos leiteiros, com variações dependendo da microrregião de estudo e da metodologia empregada. No estado da Paraíba, maior bacia produtora de leite caprino do Brasil, 20% dos criatórios das microrregiões do Cariri Oriental e Ocidental foram positivos para AC, demonstrando a ampla distribuição da doença (BANDEIRA *et al.*, 2008). Entre os animais testados pela PCR, 7,5% apresentaram resultado positivo para o *M. agalactiae*.

Campos *et al.* (2009) e Alcântara (2010), em levantamento realizado no estado da Paraíba, detectaram a presença de anticorpos anti-*M. agalactiae* em 83,28% (264/317) e 56,43% (307/544) das amostras analisadas, respectivamente, sendo que a taxa de animais positivos variou de 10% a 100% por propriedade. Nos rebanhos afetados, o controle tem se fundamentado no sacrifício de animais infectados, antibioticoterapia e segregação de animais, de acordo com as condições econômicas e sociais dos produtores. O uso da homeopatia como tratamento para doença tem demonstrado bons resultados clínicos (AZEVEDO, 2005; MARINHO, 2008; SILVA *et al.*, 2013).

Peixoto *et al.* (2018), no estado do Ceará, observaram apenas 0,64% (3/486) de animais reagentes, sendo que 18,75% (3/16) das propriedades apresentaram animais positivos para *Ma.* Por outro lado, no estado do Rio Grande do Norte, Damasceno *et al.* (2020) obtiveram 7,8% (42/538) de animais positivos e 25,9% (14/54) das propriedades possuíam

animais sororreagentes para AC, no entanto, sem associação entre a infecção por *Ma* e o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV).

Santos *et al.* (2015) diagnosticaram 10,3% (20/194) de soropositividade para AC em caprinos e ovinos no estado de Sergipe e avaliaram que a doença tem se disseminado entre os rebanhos leiteiros pela falta de conhecimento das medidas preventivas por parte dos produtores, pela incapacidade de fiscalização dos órgãos de defesa sanitária dos estados e municípios e pelo intenso comércio de animais vivos destinados ao abate e à reprodução.

Apesar dos estudos realizados acima, ainda há lacunas quanto à etiologia e associação de micoplasma e outros microrganismos bacterianos nos casos de AC no Brasil, bem como seu impacto no perfil celular e composição química do leite caprino. Com isso, objetivou-se com este trabalho verificar a prevalência atual da agalaxia contagiosa em rebanhos de cabras leiteiras em condições semiáridas nos estados da Paraíba e Pernambuco e avaliar o impacto das coinfeções por *Mycoplasma* spp. e de bactérias convencionais, causadores de mastite subclínica, sobre a qualidade do leite caprino.

## REFERÊNCIAS

- ABTIN, A. R. et al. Isolation and identification of *Mycoplasma agalactiae* by culture and polymerase chain reaction (PCR) from sheep of Qom province, Iran. **Archives of Razi Institute**, v. 68, n. 1, p. 11-16, 2013.
- ALCÂNTARA, M. D. B. **Soroprevalência da agalaxia contagiosa e vacinação experimental em caprinos**. 2010. 44 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2010.
- ALVES, B. H. L. S. et al. *Mycoplasma agalactiae* in semen and milk of goat from Pernambuco State, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 11, p. 1309-1312, 2013.
- AMORES, J. et al. Viability of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in goat milk samples stored under different conditions. **Veterinary Microbiology**, v. 145, n. 3-4, p. 347–350, 2010.
- AZEVEDO, E. O. **Aspectos clínicos, microbiológicos, anátomo-patológicos e epidemiológicos da agalaxia contagiosa dos ovinos e caprinos (ACOC) no Brasil**. 2005. 135 f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2005.
- AZEVEDO, E. O. et al. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. **Brazilian of Journal Microbiology**, v. 37, p. 576-581, 2006.
- BANDEIRA, D. A. et al. Infection by *Mycoplasma agalactiae* in dairy goat herds in the microregions of Cariri in Paraíba State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, 2008.
- CAMPOS, A. C. et al. ELISA protein G for the diagnosis of contagious agalactia in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 84, p. 70-75, 2009.
- DAMASCENO, E. M. et al. Seroprevalence and associated risk factors of *Mycoplasma agalactiae* and investigation of coinfection with the caprine lentivirus in Rio Grande do Norte, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, p. 2111–2117, 2020.
- GIL, A. M. C. et al. Genital lesions in an outbreak of caprine contagious agalactia caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*. **Journal Veterinary Medicine B**, v. 50, p. 484-487, 2003.
- GÓMEZ MARTÍN, A. A. et al. Controlling contagious agalactia in artificial insemination centers for goats and detection of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in semen. **Theriogenology**, v. 77, p. 1252-1256, 2012.
- KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, v. 48, n. 2, p. 167-188, 1981.
- Kumar A. et al. *Mycoplasma agalactiae*, an etiological agent of contagious agalactia in small ruminants: a review. **Veterinary Medicine International**, 2014.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29 n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MARINHO, M. L. **Ação terapêutica do bioterápico de *Mycoplasma agalactiae* em caprinos com agalaxia contagiosa dos ovinos e caprinos**. 2008. 118 f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

MORAES, A. G. M. et al. Isolamento de *Mycoplasma* spp. no trato reprodutivo de pequenos ruminantes no semiárido paraibano. **Archives of Veterinary Science**, v. 22, n. 2, 2017.

PEREIRA, A. R. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I: gordura e proteína. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 3, p. 121-124, 1999.

PEIXOTO, R. M. et al. *Mycoplasma agalactiae* em rebanhos leiteiros no estado do Ceará em associação com o vírus da artrite encefalite caprina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1533, 2018.

PIRISI, A.; LAURET, A.; DOBEUF, J. P. Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 167-178, 2007.

PRADA E SILVA, L. F. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II: lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 4, p. 330-333, 2000.

SANTOS, M. O. et al. Agalaxia contagiosa em ovinos e caprinos do Estado do Sergipe: dados preliminares. **Scientia Plena**, v. 11, n. 4, p. 1-5, 2015.

SANTOS, M. V. Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos. In: Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite, 2., Ribeirão Preto. **Anais...** São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2002. p. 179-188.

SANTOS, S. B. et al. Epidemiology of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* cluster in flocks of Northeastern Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, n. 4, 2018.

SILVA, N. S. et al. Tratamento alopático e homeopático em caprinos com agalaxia contagiosa: estudo comparativo. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, n. 4, p. 57-64, 2013.

SILVA, N. S. et al. Infecção congênita em cabritos por *Mycoplasma agalactiae*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, p. 631-634, 2014.

## **CAPÍTULO I:**

Aspectos epidemiológicos, clínicos, e diagnósticos da agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes: revisão sistemática e metanálise

Trabalho a ser submetido à revista *Ciência Animal Brasileira*

## **Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico para agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes: revisão sistemática e metanálise**

Epidemiological, clinical, and diagnostic aspects of contagious agalactia in small ruminants: systematic review and meta-analysis

Natanael Souza Silva<sup>1</sup>, Clécio Henrique Limeira<sup>2</sup>, Marcia Almeida Melo<sup>1</sup>

1 Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil.

2 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Santarém, PA, Brasil.

\*Correspondentes: [natanaelvet@gmail.com](mailto:natanaelvet@gmail.com); [marcia.melo@ufcg.edu.br](mailto:marcia.melo@ufcg.edu.br)

### **Resumo**

A agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes apresenta distribuição mundial, tendo como principal agente etiológico o *Mycoplasma agalactiae*, entretanto, outras espécies de bactérias do gênero já foram descritas infectando caprinos e ovinos, causando maior impacto econômico em espécies destinadas à produção leiteira. O objetivo do estudo foi realizar uma revisão sistemática com metanálise para caracterizar os aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnósticos para agalaxia contagiosa. Nos dados qualitativos, observa-se que animais infectados apresentam uma tríade sintomatológica clássica da doença, caracterizada por mastite ou agalaxia, artrite e conjuntivite. Os espécimes utilizados para diagnóstico são dependentes da sintomatologia clínica presentes nos animais. Entre os métodos de diagnóstico, as técnicas microbiológicas e a reação em cadeia da polimerase (PCR) foram utilizadas em 70,3% (26/37) dos estudos selecionados. Na metanálise, observou-se uma prevalência combinada de 10,46% com alta heterogeneidade, atribuída à alta heterogeneidade observada para os grupos caprinos e ovinos. A agalaxia contagiosa é clinicamente importante nas infecções de pequenos ruminantes, acometendo praticamente todos os sistemas orgânicos, devendo ser considerada no diagnóstico diferencial com outras enfermidades. Além disso, a alta heterogeneidade observada entre os estudos salienta a necessidade de pesquisas epidemiologicamente embasadas, visando evitar resultados heterogêneos.

**Palavras-chave:** caprinos, ovinos, *Mycoplasma agalactiae*

### **Abstract**

Contagious agalactia in small ruminants has a worldwide distribution, with *Mycoplasma agalactiae* as the main etiological agent, however, other species of bacteria of the genus have already been described infecting goats and sheep, causing greater economic impact on species destined for dairy production. The aim of the study was to perform a systematic review with meta-analysis to characterize the clinical, epidemiological and diagnostic aspects of contagious agalactia. In the qualitative data, it is observed that infected animals present a classic symptomatological triad of the disease, characterized by mastitis or agalactia, arthritis and conjunctivitis. The specimens used for diagnosis are dependent on the clinical symptoms present in the animals. Among the diagnostic methods, microbiological techniques and polymerase chain reaction (PCR) were used in 70.3% (26/37) of the selected studies. In the meta-analysis, a combined prevalence of 10.46% with high heterogeneity was observed, attributed to the high heterogeneity observed for the goat and sheep groups. Contagious agalactia is clinically important in infections of small ruminants, affecting practically all

organ systems, and should be considered in the differential diagnosis with other diseases. In addition, the high heterogeneity observed between the studies highlights the need for epidemiologically based research, in order to avoid heterogeneous results.

**Keywords:** goats, sheep, *Mycoplasma agalactiae*

## Introdução

A agalaxia contagiosa (AC) é endêmica nos países do Mar Mediterrâneo e amplamente distribuída na Europa, Ásia Ocidental, África, Estados Unidos (EUA) e Brasil, acometendo caprinos e ovinos em diferentes faixas etárias. Tem como principal agente etiológico o *Mycoplasma agalactiae* (*Ma*), mas outras espécies podem estar envolvidas como o *M. mycoides* subsp. *mycoides* grande colônia (*Mmm<sub>LC</sub>*), *M. mycoides* subsp. *capri* (*Mmc*), *M. capricolum* subsp. *capricolum* (*Mcc*) e *M. putrefaciens* (*Mp*)<sup>(1)</sup>.

Os sinais clínicos observados são dependentes da categoria animal afetada, sendo observado com mais frequência surtos em fêmeas logo após o parto, nas quais relatam-se principalmente casos de mastite, podendo variar de aquosa a catarral, agalaxia, artrite, principalmente nas articulações do carpo e tarso, que em alguns casos progride para poliartrite e morte por inanição; casos de aborto, pneumonia e transmissão vertical têm sido descritos, mas com baixa frequência<sup>(2,3)</sup>.

Vários estudos foram realizados visando determinar a ocorrência e etiologia para AC em pequenos ruminantes. No continente Asiático, infecções pelo *Ma* apresentam prevalências de 6,3% a 15,4% em caprinos e de 2,7% a 19,8% para ovinos, podendo chegar a 85% em animais com sintomatologia clínica. Na Europa, observa-se uma variação de 2,5% a 28,9% para infecções em pequenos ruminantes<sup>(4,5,6,7,8,9)</sup>.

Para as demais espécies de *Mycoplasma* sp citadas como agentes etiológicos da AC, observa-se maior prevalência para o *Mmc*, em alguns casos com incidência superior ao *Ma*, como relatado por Amores et al.<sup>(5)</sup>, em amostras de leite, sêmen e swab auricular na Espanha. No geral, observam-se variações de 0,2% a 26,4% para *Mmc*, 1,3% a 1,8% para *Mcc* e de 0,7 para *Mp*. A ocorrência de coinfeção já foi relatada na maioria dos casos em associação com o *Ma*, para o *Mp* (10,3%) em ovinos no Irã e para o *Mmc* (1,3%) e *Mcc* (0,6%) em caprinos na Espanha<sup>(5,10)</sup>.

As pesquisas que abordam sobre os índices de prevalência e incidência de AC em pequenos ruminantes são importantes tendo em vista que esses animais são fontes de subsistência para famílias em países subdesenvolvidos, além da carne e do leite serem a fonte para diversos produtos de origem animal. Além disso, levantamentos que visem avaliar a situação epidemiológica da doença e a identificação agente etiológico são necessários para

subsidiar a elaboração de medidas sanitárias de controle por parte dos órgãos governamentais. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi realizar uma síntese qualitativa e quantitativa dos aspectos clínicos, epidemiológicos e de diagnóstico para agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes através da metanálise com base em uma revisão sistemática da literatura.

## **Material e Métodos**

O presente estudo consistiu em uma revisão sistemática de literatura, com síntese e análise dos achados clínicos, material e métodos de diagnóstico, agentes etiológicos e metanálise dos dados quantitativos disponíveis em artigos de periódicos indexados. O estudo foi conduzido com base nas recomendações metodológicas de PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-analysis* - Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-análises)<sup>(11)</sup>.

**Critérios de elegibilidade:** Artigos publicados em revistas indexadas foram considerados elegíveis se consistissem em estudos que descrevessem as características clínicas (inclusive infecção experimental) e epidemiológicas (prevalência ou ocorrência e espécie) e agente etiológico para agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes infectados por *Ma*, *Mmm*<sub>LC</sub>, *Mmc*, *Mcc* e *Mp*, atualmente considerados os principais agentes etiológicos para AC.

Não houve restrições quanto ao ano em que o estudo foi desenvolvido ou publicado, o idioma ou o país onde o estudo foi realizado. Revisões de literatura, notas de pesquisa, editoriais e outros tipos de publicações fora dos critérios de inclusão foram excluídos.

**Fontes de informação e estratégias de pesquisa:** Considerando os critérios de inclusão pré-estabelecidos, o processo de identificação de artigos foi desenvolvido utilizando a Plataforma Capes, PubMed e Scielo. As seguintes combinações de termos de pesquisa em inglês e português foram usadas: contagious agalactia OR agalaxia contagiosa; mycoplasmosis in small ruminants OR micoplasmose em pequenos ruminantes. As citações em estudos foram identificadas e salvas para posterior análise e seleção. As buscas foram realizadas entre 20 de agosto a 04 de setembro de 2020.

**Seleção de estudos e extração de dados:** No momento da pesquisa, selecionaram-se os estudos de forma independente com base em uma análise de títulos e resumos. Após essa etapa, os artigos selecionados foram lidos por completo. Por meio dessa avaliação, outros



estudos foram excluídos por não atenderem os critérios de elegibilidade. Ocorrências de divergências entre os pesquisadores foram resolvidos por consenso entre ambos.

Para facilitar a extração dos dados, os artigos selecionados foram divididos em duas categorias: o primeiro incluiu todos os relatos de casos de agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes, para síntese qualitativa; enquanto a segunda incluiu estudos transversais, para síntese quantitativa e metanálise.

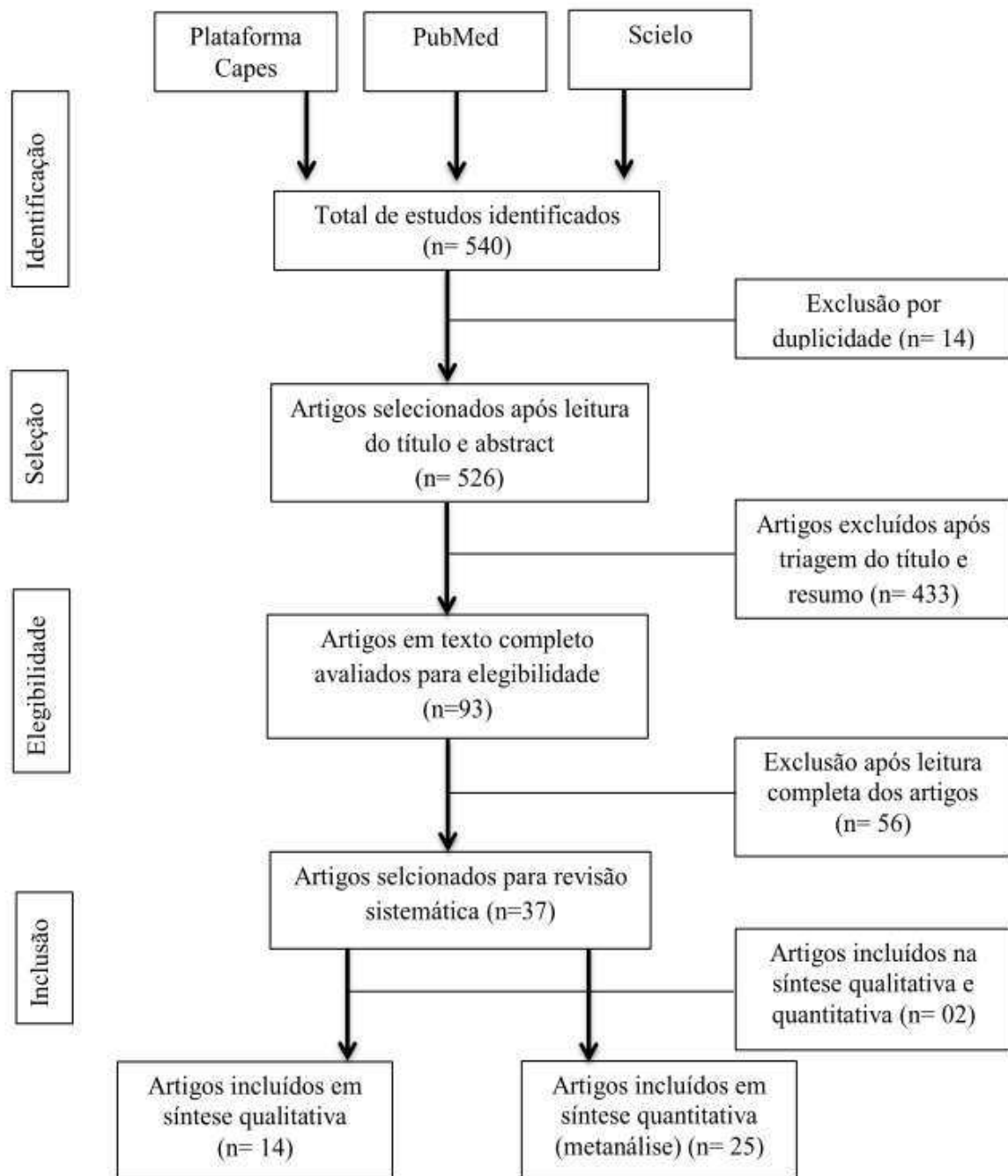
Os dados extraídos foram adicionados em planilhas para análise. As variáveis qualitativas compreendia: autores, ano de publicação, país, continente, sinais clínicos, espécie animal, amostra e método utilizado para diagnóstico e agente etiológico. Por sua vez, os dados quantitativos compreenderam as referências (autores, ano de publicação e país), dados estatísticos (tamanho da amostra e número de positivos, prevalência e espécie) e diagnóstico que compreende material da amostra, método diagnóstico e agente etiológico.

**Análise de dados:** Os dados qualitativos foram analisados por meio de estatística descritiva, com distribuições absolutas e percentuais, para caracterizar os aspectos clínicos e diagnóstico para AC.

Os dados quantitativos foram combinados por meio de uma metanálise, na qual o desfecho consistiu na proporção de animais positivos nos testes de diagnóstico para micoplasmose. A presença de heterogeneidade foi determinada pelo teste Q de Cochran e quantificada pelo teste  $I^2$  de Higgins e Thompson, os resultados combinados dos desfechos foram calculados com base no modelo de efeitos aleatórios pelo inverso da variância<sup>(12)</sup>. A análise do gráfico de funil e o teste de Egger foram utilizados para identificar possíveis vieses de publicação<sup>(13)</sup>. As análises foram conduzidas no programa estatístico R, versão 3.5.1<sup>(14)</sup> na interface RStudio (versão 1.1.463), considerado o intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

## **Resultados e Discussão**

No total de 540 artigos identificados nos bancos de dados, destes 37 foram adequados para o estudo. Como dois artigos preencheram ambos os critérios de elegibilidade, 14 foram agrupados nas características qualitativas e 25 foram considerados estudos transversais (estudos de prevalência/ocorrência) e com isso agrupados para síntese quantitativa e para metanálise (Figura 1).



**Figura 1:** Fluxograma do processo de busca, seleção e inclusão de estudos para revisão sistemática e metanálise.

Os estudos qualitativos contemplaram três continentes (América, Ásia e Europa) e nove países (Brasil, Espanha, Estados Unidos, França, Índia, Irã, Itália, Jordânia, Paquistão), sendo que destes 57,1% (8/14) relataram infecção em caprinos e 21,4% (3/14) em ovinos, a mesma quantia foi relatado em ambas às espécies. Apenas 35,7% (5/14) descreveram infecção em animais jovens.

As principais manifestações clínicas descritas são limitadas principalmente à glândula mamária e articulações, contudo apresenta quadro clínico variável desde mastite subclínica com queda na produção leiteira a mastite clínica variando de aquosa a catarral e agalaxia. Nos casos de artrite, as principais articulações acometidas são as do carpo e tarso, podendo progredir para poliartrite. Observa-se ceratoconjuntivite e pneumonia, esta última atribuída principalmente em infecções por *Mmc*<sup>(15,16,17)</sup>, o *Mmm*<sub>LC</sub> pode estar associado como descrito por De La Fe et al.<sup>(18)</sup> em cabritos, devido ao maior tropismo que essa espécie de micoplasma apresenta pelo sistema respiratório<sup>(18)</sup>. No sistema reprodutor, relata-se metrite e degeneração testicular. Artrite, conjuntivite, pneumonia, meningite e morte súbita foram observadas em animais jovens<sup>(2,3,17,19,20)</sup>. Os dados qualitativos estão descritos na Tabela 1.

A sintomatologia clínica determina o material e método a ser utilizado para diagnóstico, sendo o leite o material de eleição, utilizado em 64,9% (24/37) dos estudos. Como método diagnóstico, destaca-se o microbiológico em associação com a PCR descrito em 70,3% (26/37) das pesquisas. Ambos os exames são usados de forma complementar, comparando sensibilidade ou identificando infecção ativa e o micoplasma envolvido, respectivamente. Quase sempre a PCR apresenta maior sensibilidade, no entanto, os exames microbiológicos são considerados como padrão ouro para diagnóstico.

O diagnóstico da AC poder ser realizado com a observação dos sinais clínicos, pois se caracteriza por uma tríade sintomatológica que acomete a glândula mamária com mastite e/ou agalaxia, em alguns casos nessa sequência, as articulações com artrite e poliartrite e os olhos com ceratoconjuntivite. Entretanto, outros patógenos podem desencadear sintomatologia semelhante como a mastite clínica causada por bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. e pelo vírus da artrite encefalite caprina (CAEV). Assim, a AC deve ser considerada no diagnóstico diferencial nas infecções das glândulas mamárias e nas artropatias em pequenos ruminantes, em especial quando em regiões endêmicas para ambas as enfermidades, inclusive avaliar a possibilidade de infecções mistas por esses agentes. Entretanto, Damasceno et al.<sup>(26)</sup> não perceberam correlação entre as infecções por *Ma* e o CAEV no Brasil, não encontrando anticorpos para ambas as doenças em animais infectados. Através do teste imunoenzimático indireto (ELISA) e do Western blot, os autores observaram 7,8% (42/538) e 3,9% (21/538) de prevalência para AC e CAEV, respectivamente, mas com maior dispersão desta com 42,6% (23/54) das propriedades com animais sorologicamente positivos.

**Tabela 1:** Aspectos qualitativos observados nos estudos que relataram agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes.

Referências			Características clínicas		Diagnóstico		
Autores	País	Continente	Sinais clínicos	Espécie	Amostra	Método diagnóstico	Agente etiológico
Azevedo et al. <sup>(2)</sup>	Brasil	América	Mastite, agalaxia, artrite e conjuntivite	Caprinos e ovinos	Leite, líquido sinovial, suabe auricular e nasal	Microbiológico, imunoperoxidase indireta, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Silva et al. <sup>(3)</sup>	Brasil	América	Mastite, artrite em cabras e poliartrite em cabritos	Caprinos	Líquido sinovial	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Hajizadeh et al. <sup>(10)</sup>	Irã	Ásia	Mastite, artrite e ceratoconjuntivite	Caprinos e ovinos	Leite, líquido sinovial e suabe ocular	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i> , <i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i> , <i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i> , <i>M. putrefaciens</i>
Di Provvido et al. <sup>(15)</sup>	Jordânia	Ásia	Artrite e pneumonia	Caprinos		Infecção experimental	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>
Shahzad et al. <sup>(16)</sup>	Paquistão	Ásia	Mastite, artrite e pneumonia	Caprinos	Leite, líquido sinovial e pleural, suabe nasal e tecido pulmonar	Microbiológico, GIT, PCR	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>
Johnson et al. <sup>(17)</sup>	EUA	América	Artrite, pneumonia e meningite em cabritos	Caprinos	Suabe articular	Microbiológico, PCR	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>
De La Fe et al. <sup>(18)</sup>	Espanha	Europa	Mastite subclínica e clínica, artrite e pneumonia em cabritos	Caprinos	Leite, líquido sinovial e suabe auricular	Microbiológico, PCR	<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i> + <i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> LC
Gil et al. <sup>(19)</sup>	Espanha	Europa	Mastite, artrite, conjuntivite, febre, depressão, anorexia, emagrecimento, metrite, degeneração testicular, prostração, morte súbita, poliartrite e prostação em cabritos	Caprinos	Leite, líquido sinovial e suabe ocular	Microbiológico	<i>M. agalactiae</i> , <i>M. putrefaciens</i>
Al-Momani et al. <sup>(20)</sup>	Jordânia	Ásia	Mastite de graus variados, pneumonia e artrite (em animais jovens)	Caprinos e ovinos	Leite e suabe nasal	Microbiológico, teste de inibição de crescimento (GIT), eletroforese em gel de gradiente desnaturante	<i>M. agalactiae</i> , <i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i> , <i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> LC, <i>M. putrefaciens</i>

(DGGE), PCR							
Kinde et al. <sup>(21)</sup>	EUA	América	Mastite clínica, artrite e morte súbita em cabritos	Caprinos	Leite, pulmões, canais auditivos externos, fluidos articulares, fígado, baço e cérebro	Imunofluorescência	<i>M. agalactiae</i> , <i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> LC
Sanchis et al. <sup>(22)</sup>	França	Europa	Redução da produção leiteira, mastite, agalaxia e ceratoconjuntivite	Ovinos		Infecção experimental	<i>M. agalactiae</i>
Kumar et al. <sup>(23)</sup>	Índia	Ásia	Queda na produção leiteira, artrite, conjuntivite e dispneia	Caprinos	Leite, líquido sinovial e pleural, tecido pulmonar, suabe auricular, conjuntival e prepucial e secreção vaginal	Microbiológico, PCR	<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i> , <i>M. mycoides</i> subsp. <i>Capri</i>
Todaro et al. <sup>(24)</sup>	Itália	Europa	Queda variável na produção leiteira	Ovinos		Infecção experimental	<i>M. agalactiae</i>
Marinero et al. <sup>(25)</sup>	Itália	Europa	Hipertermia, anorexia, redução da produção leiteira, aumento dos linfonodos mamários com fibrose, agalaxia, artrite e ceratoconjuntivite	Ovinos		Infecção experimental	<i>M. agalactiae</i>

0 Na América (Norte e Sul), os agentes etiológicos prevalentes foram *Ma*, *Mmc*, *Mmm<sub>LC</sub>*  
1 e *Mm<sub>cluster</sub>*. Na Ásia e Europa, relataram-se a ocorrência de *Ma*, *Mmc*, *Mcc*, *Mp* e *Mmm<sub>LC</sub>* e na  
2 Oceania observam-se *Mm<sub>cluster</sub>* e *Mmc*, sendo apenas este último descrito na África. Infecções  
3 mistas foram relatadas em rebanhos caprinos na Espanha e Irã com a associação de *Mcc* +  
4 *Mmm<sub>LC</sub>*, *Ma* + *Mmc*, *Mcc* e *Mp*. O *Ma* destacou-se como principal agente etiológico da AC  
5 em 81,1% (30/37) dos estudos. A descoberta de outras espécies de micoplasmas é  
6 epidemiologicamente importante, especialmente em regiões onde o *Ma* é tido como único  
7 agente etiológico da AC, como é o caso do Brasil<sup>(2)</sup>, dificultando as medidas de controle e  
8 diagnóstico, uma vez que outras espécies podem estar envolvidas.

9 O tratamento para micoplasmose foi relatado em 28,6% (4/14) estudos qualitativos. A  
10 terapia é baseada no uso de antibióticos, como as tetraciclina, macrolídeos, florfenicol,  
11 tilosina e fluoroquinolonas, no entanto, os resultados do tratamento podem ser ruins ou  
12 ineficazes contra micoplasmas se a dose terapêutica não for bem definida e o antibiótico não  
13 for administrado por um período suficientemente longo<sup>(19,20)</sup>. Azevedo et al.<sup>(2)</sup> nos primeiros  
14 surtos de AC por *Ma* descritos no Brasil estabeleceram o tratamento com uso de tilosina (20  
15 mg/kg) durante cinco dias, obtendo bons resultados, associado à segregação de animais  
16 enfermos, impossibilitando a transmissão para o restante do rebanho. Johnson et al.<sup>(17)</sup>  
17 relataram casos de artrite, pneumonia e meningite por *Mmc* em cabritos leiteiros durante um  
18 período de três anos, conseguindo controle da enfermidade com a implementação de medidas  
19 rigorosas de higienização nos utensílios de aleitamento, o uso prolongado de florfenicol (40  
20 mg/kg), realização de swabes auriculares para diagnóstico de animais assintomáticos, com  
21 remoção do rebanho dos positivos e permitindo o acesso das crias às mães durante 4-6  
22 semanas de vida. Apesar dos autores não mencionarem, observa-se que essa medida  
23 possibilitou redução do estresse com desmama precoce, com transferência de imunidade  
24 passiva para as crias de forma eficiente.

25 Silva et al.<sup>(3)</sup> relataram transmissão vertical em caprinos naturalmente infectados pelo  
26 *Ma*. Apesar das cabras apresentarem artrite e mastite serosa durante a gestação, no parto  
27 estavam aparentemente normais após terem sido medicadas por 15 dias com tilosina e  
28 oxitetraciclina LA (20 mg/kg), demonstrando que apesar do tratamento prolongado com  
29 antimicrobianos apresentar bons resultados clínicos, o mesmo não proporciona a cura  
30 bacteriológico, tornando-os portadores assintomáticos.

31 Na síntese quantitativa, os estudos foram realizados em oito países (Austrália, Brasil,  
32 Espanha, Irã, Iraque, Jordânia, Nigéria, Paquistão) abrangendo cinco continentes, os já

33 descritos para os dados qualitativos acrescidos de África e Oceania. A metanálise foi realizada  
34 utilizando 29 estudos de prevalência/ocorrência para AC em caprinos ou ovinos, extraídos de  
35 25 publicações selecionadas com estudos transversais (Tabela 2).

36 Inicialmente, o resultado combinado da metanálise para prevalência da AC em  
37 pequenos ruminantes foi de 10,46% (IC 95% - 7,38 – 14,61%), porém com presença de  
38 heterogeneidade identificada pelo teste Q de Cochran ( $p < 0,01$ ) e classificada como alta pelo  
39 teste de Higgins e Thompson ( $I^2 = 93,1\%$ ). Por isso, outras metanálises foram realizadas  
40 agrupando os dados por subgrupo, porém sem alteração no grau de heterogeneidade (Tabela  
41 3; Figura 2).

42 Ao avaliar a metanálise por continente observa-se que a prevalência para AC em  
43 pequenos ruminantes foi maior na Europa (25,44%; 18,81 – 33,46%), seguido da América do  
44 Sul (11,70%; 7,12 – 18,65%) e Ásia (10,38%; 6,47 – 16,23%). A África e Oceania  
45 apresentaram as mais baixas prevalências com 0,58% (0,08 – 4,01%) e 0,23% (0,07 – 0,72%),  
46 respectivamente, entretanto, não foi possível realizar uma análise mais precisa, uma vez que  
47 apenas um artigo foi selecionado em cada continente<sup>(29,36)</sup>.

48 Os 29 estudos incluídos na metanálise e a prevalência individual é observada na  
49 Figura 2 através dos pontos presentes no centro do gráfico; a linha horizontal se refere ao  
50 intervalo de confiança e os diamantes demonstram a prevalência combinada entre os estudos.  
51 Resultados de prevalência, intervalos de confiança e peso com qual cada estudo participou do  
52 resultado agregado são demonstrados nas três últimas colunas, respectivamente. A  
53 visualização do gráfico de funil (Figura 3) apresenta uma distribuição assimétrica dos pontos  
54 indicando presença de viés, porém a aplicação do teste de Egger não confirmou a hipótese de  
55 viés de publicação ( $p = 0,1534$ ), assim a assimetria pode ser devido à alta heterogeneidade  
56 observada para os grupos caprinos (95,1%) e ovinos (91,5%).

**Tabela 2:** Descrição dos dados quantitativos para agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes inseridos na metanálise.

Referências		Dados estatísticos				Diagnóstico*		
Autores	País	N°		Prevalência	Espécie	Material	Método diagnóstico	Agente etiológico
		Amostral	Positivos					
Abtin et al. <sup>(1)</sup>	Irã	102	19	18,6	Ovinos	Leite, líquido sinovial, suabe auricular e ocular	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Kheirabadi e Ebrahimi <sup>(4)</sup>	Irã	101	20	19,8	Ovinos	Leite e suabe conjuntival	PCR	<i>M. agalactiae</i>
Amores et al. <sup>(5)</sup>	Espanha	159	51	32,1	Caprinos	Leite, sêmen e suabe auricular	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i> , <i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i> , <i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>
Garnica et al. <sup>(6)</sup>	Espanha	45	13	28,9	Ovinos	Leite	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Al-Khudher e Kshash <sup>(7)</sup>	Iraque	150	4	2,7	Ovinos	Leite	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Pourbakhsh et al. <sup>(8)</sup>	Irã	39	6	15,4	Caprinos	Sêmen	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Bafti et al. <sup>(9)</sup>	Irã	176	11	6,3	Caprinos	Leite, líquido sinovial, sangue, suabe auricular e conjuntival	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Bafti et al. <sup>(9)</sup>	Irã	88	5	5,7	Ovinos	Leite, líquido sinovial, sangue, suabe auricular e conjuntival	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Hajizadeh et al. <sup>(10)</sup>	Irã	116	12	10,3	Ovinos	Leite, líquido sinovial e suabe ocular	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i> + <i>M. Putrefaciens</i>



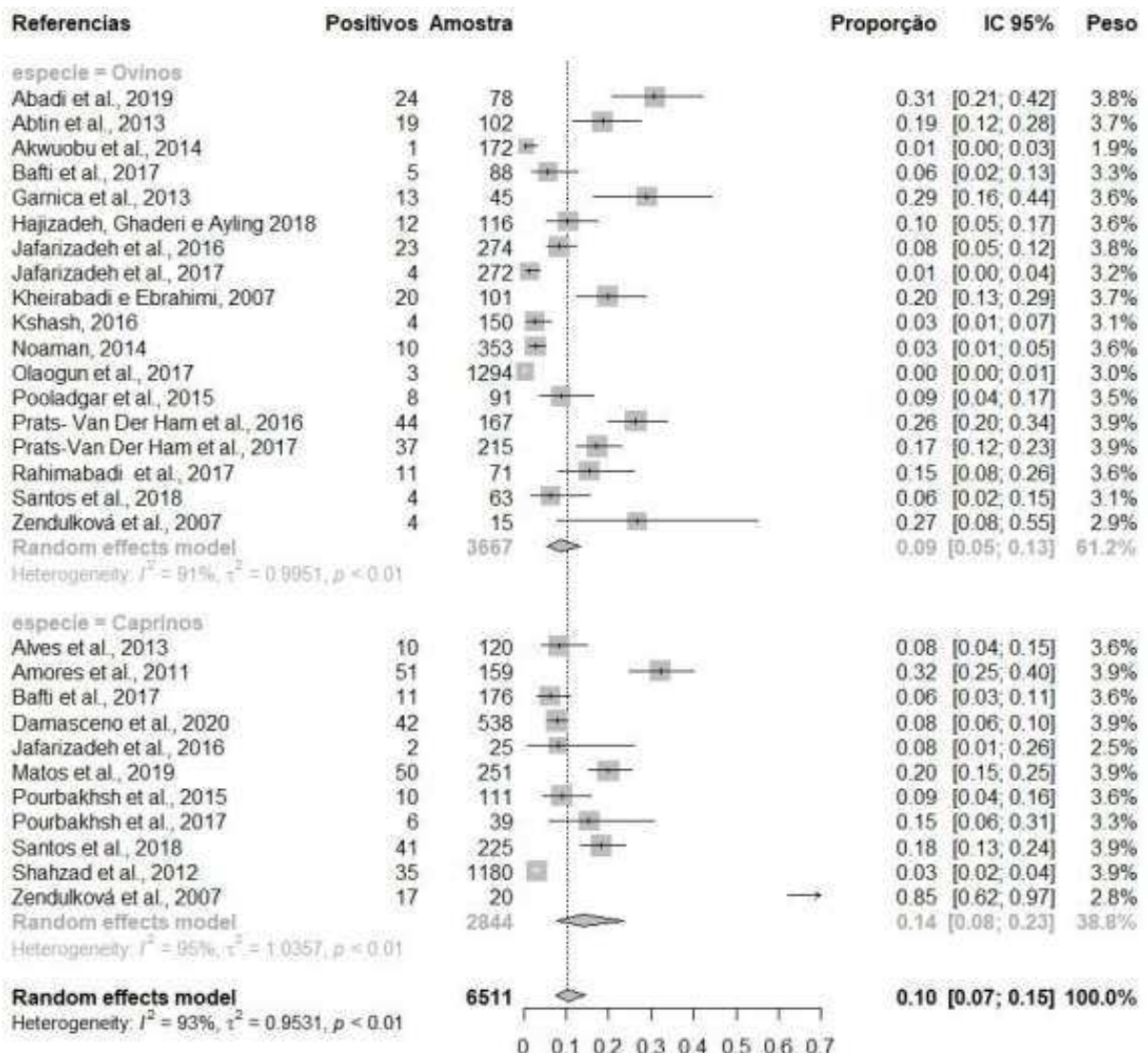
Shahzad et al. <sup>(16)</sup>	Paquistão	1180	35	3,0	Caprinos	Leite, líquido sinovial e pleural, suabe nasal, tecido de pulmão	Microbiológico, Teste de inibição do crescimento (GIT), PCR	<i>M. mycoides subsp. capri</i>
Damasceno et al. <sup>(26)</sup>	Brasil	538	42	7,8	Caprinos	Soro sanguíneo	ELISA	<i>M. agalactiae</i>
Zendulková et al. <sup>(27)</sup>	Jordânia	20	17	85,0	Caprinos	Suabe auricular, ocular, prepucial e vaginal	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Zendulková et al. <sup>(27)</sup>	Jordânia	15	4	26,7	Ovinos	Suabe auricular, ocular, prepucial e vaginal	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Alves et al. <sup>(28)</sup>	Brasil	120	10	8,3	Caprinos	Leite e sêmen	PCR	<i>M. agalactiae</i>
Akwuobu et al. <sup>(29)</sup>	Nigéria	172	1	0,6	Ovinos	Suabe nasal	Microbiológico, PCR	<i>M. mycoides subsp. capri</i>
Noaman <sup>(30)</sup>	Irã	353	10	2,8	Ovinos	Leite e suabe ocular	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Pooladgar et al. <sup>(31)</sup>	Irã	91	8	8,8	Ovinos	Leite, líquido sinovial, suabe auricular, nasal e ocular	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Pourbakhsh et al. <sup>(32)</sup>	Irã	111	10	9,0	Caprinos	Leite, suabe auricular e ocular, tecido de pulmão e linfonodo	Microbiológico, PCR	<i>M. mycoides cluster, M. capricolum subsp. capricolum</i>
Jafarizadeh et al. <sup>(33)</sup>	Irã	274	23	8,4	Ovinos	Leite, líquido sinovial, suabe auricular e ocular	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae, M. capricolum subsp. capricolum, M. mycoides subsp. capri, M. putrefaciens</i>

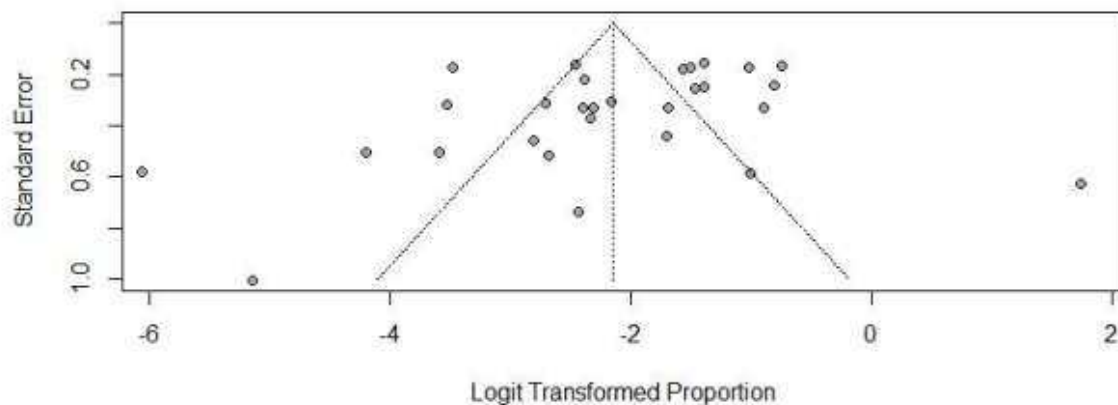
Jafarizadeh et al. <sup>(33)</sup>	Irã	25	2	8,0	Caprinos	Leite, líquido sinovial, suabe auricular e ocular	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Prats-Van Der Ham et al. <sup>(34)</sup>	Espanha	167	44	26,3	Ovinos	Sêmen	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Jafarizadeh et al. <sup>(35)</sup>	Irã	272	4	1,5	Ovinos	Leite, suabe auricular e conjuntival	Microbiológico, PCR	<i>M. mycoides</i> cluster, <i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>
Olaogun et al. <sup>(36)</sup>	Austrália	1294	3	0,2	Ovinos	Leite, líquido sinovial, lavado bronquial, suabe nasal, ocular e de pulmão	Microbiológico, PCR	<i>M. mycoides</i> cluster, <i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>
Prats-Van Der Ham et al. <sup>(37)</sup>	Espanha	215	37	17,2	Ovinos	Sêmen, suabe auricular e nasal	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Rahimabadi et al. <sup>(38)</sup>	Irã	71	11	15,5	Ovinos	Leite, líquido sinovial, suabe auricular, ocular e vaginal	Microbiológico, PCR	<i>M. agalactiae</i>
Santos et al. <sup>(39)</sup>	Brasil	225	41	18,2	Caprinos	Leite, suabe vaginal	PCR	<i>M. agalactiae</i> , <i>M. mycoides</i> cluster
Santos et al. <sup>(39)</sup>	Brasil	63	4	6,3	Ovinos	Leite e suabe vaginal	PCR	<i>M. agalactiae</i> , <i>M. mycoides</i> cluster
Abadi et al. <sup>(40)</sup>	Irã	78	24	30,8	Ovinos (feto)	Baço e conteúdo abomasal	PCR	<i>M. agalactiae</i>
Matos et al. <sup>(41)</sup>	Brasil	251	50	19,9	Caprinos	Leite	PCR	<i>M. agalactiae</i>

\* Dados não inseridos na metanálise, descritos apenas para servir de fonte para futuras pesquisas.

**Tabela 3:** Resultado combinado para prevalência da agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes.

	Nº de estudos	Nº Amostral	Positivos	Prevalência combinada (IC 95%)	Heterogeneidade	
					p	I <sup>2</sup>
Prevalência geral combinada	29	6511	521	10,46% (7,38 – 14,61%)	< 0.01	93,10%
<b>Continente</b>						
Europa	4	586	145	25,44% (18,81 – 33,46%)	<0.01	74,00%
América do Sul	5	1197	147	11,70% (7,12 – 18,65%)	<0.01	87,80%
Ásia	18	3262	225	10,38% (6,47 – 16,23%)	<0.01	91,50%
África	1	172	1	0,58% (0,08 – 4,01%)	Não aplicável	
Oceania	1	1294	3	0,23% (0,07 – 0,72%)	Não aplicável	
<b>Espécie</b>						
Caprinos	11	2844	275	13,94% (7,90 – 23,45%)	<0.01	95,10%
Ovinos	18	3667	246	8,65% (5,44 – 13,48%)	<0.01	91,50%

**Figura 2:** Prevalência combinada dos 29 estudos para agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes.



**Figura 3:** Apresentação da distribuição assimétrica dos estudos de prevalência para agalaxia contagiosa em pequenos ruminantes.

Como observado nos artigos selecionados anteriormente para a síntese qualitativa e quantitativa, a AC em pequenos ruminantes apresenta distribuição mundial, ocorrendo em cinco dos seis continentes, com variações da prevalência dependendo do grau de endemicidade regional e metodologia utilizada na pesquisa.

Na Europa, os estudos transversais foram originados de quatro publicações realizadas na Espanha (16%; 4/25), com variação na prevalência de 17,2% a 32,1%<sup>(5,37)</sup> em trabalhos realizados nos centros de inseminação buscando animais assintomáticos para AC. Os estudos abrangeram todos os reprodutores caprinos do país e uma parcela dos ovinos machos localizados em uma área endêmica oriundos de três centros de inseminação. Segundo os mesmos, seguindo recomendações da World Organisation for Animal Health (OIE), os centros aceitam apenas animais de reposição vindos de propriedades que não apresentam sintomas de AC nos últimos seis meses, o que pode ser insuficiente para evitar que portadores entrem no centro. A infecção foi determinada por cultura e PCR em amostras de sêmen, swab auricular, nasal e vaginal e leite das fêmeas, mas apenas o *Ma* (0,8%; 1/119) foi isolado do sêmen de caprinos. Em reprodutores ovinos foi possível o diagnóstico do *Ma* (10,9%; (16/147) e *M. arginini* (*Marg*) (3,4%; 5/147), inclusive, infecções mistas foram diagnosticadas em de swabs vaginais de ovelhas (21,4%; 3/14), confirmando-os como principais responsáveis por distúrbios reprodutivos em pequenos ruminantes. Além disso, medidas sanitárias devem ser implementadas pelos centros de inseminação visando impedir a entrada de animais assintomáticos em seus planteis. Os autores recomendam detectar animais infectados com a combinação de amostras de sêmen e swab nasal, uma vez que os testes sorológicos mostraram baixo desempenho na detecção de animais assintomáticos.

Todos os estudos na América foram realizados no Brasil (20%; 5/25, do total das publicações), observou-se variação de 6,3% a 19,9%<sup>(39,41)</sup> através da PCR a partir de amostras de leite e swab vaginal para AC em pequenos ruminantes. As pesquisas foram realizadas na região Nordeste, nos estados da Paraíba e Pernambuco, que são endêmicos desde o diagnóstico dos primeiros casos em 2001. Apenas o *Ma* está envolvido nos casos clínicos de AC, apesar do diagnóstico por PCR do *Mm<sub>cluster</sub>* em amostras de leite de caprinos e ovinos e swab vaginal de caprinos (3,8%)<sup>(2,26,28,39)</sup>. Alves *et al.*<sup>(28)</sup> relataram frequências de 17,9% (7/39) no sêmen e 3,7% (3/81) no leite de caprinos para o *Ma*. Esses mesmos autores citam que a diferença dos valores de prevalência pode ser devido aos diferentes estágios de infecção pelo micoplasma nos rebanhos. Além disso, o caráter crônico ou subclínico da doença e o tratamento com antibióticos por longos períodos podem contribuir para as diferenças entre prevalências. Na análise de risco para infecção por *Ma* e o *Mm<sub>cluster</sub>* nos trabalhos realizados por Santos *et al.*<sup>(39)</sup> e Matos *et al.*<sup>(41)</sup>, foi observado efeito positivo para tamanho do rebanho, rebanhos mistos, sistema de criação extensivo, tipo de rebanho (carne), falha na limpeza do alojamento dos animais ou na quarentena, reposição de animais, participação em feiras e exposições e instalações inadequadas. Rebanhos com 51 e 100 animais apresentaram maiores chances de ter animais positivos. A aquisição de animais para reposição proporciona maior chance de introdução no rebanho de animais positivos quando em comparação com rebanhos fechados. A participação dos animais em feiras e exposições aumentaram as chances dos animais obterem infecção quando comparados com animais vindos de rebanhos que não participam desses eventos.

No continente, Asiático os artigos selecionados (72%; 18/25) foram originários do Irã (77,8%; 14/18), Iraque (5,6%; 1/18), Jordânia (11,1%; 2/18) e Paquistão (5,6%; 1/18). A prevalência observada foi de 6,3% a 15,4% para caprinos e de 1,5% a 15,5% para ovinos no Irã<sup>(8,9,31,34)</sup>. Noaman<sup>(30)</sup> determinou a prevalência para o *Ma* na província de Isfaran em caprinos e ovinos através do isolamento e PCR, observando apenas 3,7% (10/269) de ovinos positivos em amostras de leite e swab conjuntival. Pooladgar *et al.*<sup>(31)</sup> em trabalho realizado na província de Khuzestan com ovinos observou 8,8% (8/91) de prevalência para o *Ma*, relatando pela primeira vez o agente na região. Pourbakhsh *et al.*<sup>(32)</sup> buscando detectar *Mcc* em caprinos com suspeita de AC na província de Qom, observaram que 7,2% (8/111) foram positivas para o *Mm<sub>cluster</sub>* e destas 1,8% (2/111) foi diagnosticado como sendo *Mcc*. Jafarizadeh *et al.*<sup>(33)</sup> investigando a presença de *Ma*, *Mmc*, *Mcc* e *Mp* em rebanhos mistos de pequenos ruminantes com sintomatologia clássica da AC na província de Sharghi (Azarbaijan) relataram o envolvimento das quatro espécies em caprinos com prevalência de

5,1% (14/274), 1,1% (3/274), 1,5% (4/274) e de 0,7% (2/274), respectivamente, apenas o *Ma* foi descrito em ovinos (8%; 2/25). O *Ma* demonstrou ampla distribuição, sendo detectado em quase todas as regiões estudadas, enquanto as demais espécies foram identificadas apenas em uma área limitada, denominada de zona de infecção mista. Shahzad et al.<sup>(16)</sup> em trabalho realizado no Paquistão observou que a micoplasmose é mais prevalente em áreas montanhosas e planas (5,8% e 4,5%) do que em áreas semidesérticas e submontanhosas (3,3% e 2,9%).

Na África e Oceania, apenas um artigo foi selecionado em cada continente, impossibilitando calcular a heterogeneidade nos dados. Akwuobu et al.<sup>(29)</sup> buscando determinar a prevalência para espécies respiratórias de micoplasmas em pequenos ruminantes no estado de Benue, Nigéria, obteve prevalência de 29,8% (100/336) e de 18% (31/172) para caprinos e ovinos, respectivamente. Entre os isolados foi possível o identificar o *Mmc* (0,7%; 1/135), *M. ovipneumoniae* (94,1%; 127/135) e *Marg* (5,2%; 7/135). Em Victoria, Austrália, três isolados de *Mm<sub>cluster</sub>*, identificados como *Mmc* por sequenciamento, foram obtidos de rebanhos de pequenos ruminantes destinados ao abate sem histórico da doença; *Ma* e *Mp* não foram identificados por PCR espécie-específico (Olaogun et al.<sup>(36)</sup>).

## Conclusão

A agalaxia contagiosa é clinicamente importante nas infecções em pequenos ruminantes, acometendo praticamente todos os sistemas orgânicos, apesar de sua predileção pela glândula mamária e articulações. Contudo, deve ser considerada no diagnóstico diferencial de outras enfermidades, devido sua importância e distribuição mundial, acarretando sérios prejuízos econômicos em regiões onde a caprino-ovinocultura é bem desenvolvida. Além disso, a alta heterogeneidade observada entre os estudos salienta a necessidade de pesquisas epidemiologicamente embasadas, visando evitar resultados heterogêneos.

## Referências

1. Abtin AR, Pourbakhsh SA, Ashtari A, Bayatzadeh MA, Barani SM, Ahangaran S. Isolation and identification of *Mycoplasma agalactiae* by culture and polymerase chain reaction (PCR) from sheep of Qom province, Iran. Archives of Razi Institute. 2013;68(1):11-16. Available from: <http://dx.doi.org/10.7508/ari.2013.01.002>. PMID: 30315697. English.

2. Azevedo EO, Alcântara MDB, Nascimento ER, Tabosa IM, Barreto ML, Almeida JF, Araújo MD, Rodrigues ARO, Riet-Correa F, Castro RS. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: First report. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2006;37:576-581. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822006000400033>. English.
3. Silva NS, Azevedo EO, Campos AC, Cordeiro AA, Mamede AG, Silva RBS, Castro RS, Nascimento ER, Marinho ML. Infecção congênita em cabritos por *Mycoplasma agalactiae*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2014;66(2):631-634. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-41626625>. Portuguese.
4. Kheirabadi KHP, Ebrahimi A. Investigation of *Mycoplasma agalactiae* in milk and conjunctival swab samples from sheep flocks in West Central, Iran. *Pakistan Journal of biological Sciences*. 2007;10(8):1346-1348. Available from: <http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2007.1346.1348>. PMID: 19069942. English.
5. Amores J, Gómez-Martín A, Corrales JC, Sánchez A, Contreras A, De La Fe C. Presence of contagious agalactia causing mycoplasmas in Spanish goat artificial insemination centres. *Theriogenology*. 2011;75:1265-1270. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.040>. PMID: 21220162. English.
6. Garnica ML, Rosales RS, Gonzalo C, Santos JA, Nicholas RAJ. Isolation, molecular characterization and antimicrobial susceptibilities of isolates of *Mycoplasma agalactiae* from bulk tank milk in an endemic area of Spain. *Journal of Applied Microbiology*. 2013;114:1575-1581. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/jam.12176>. PMID: 23445345. English.
7. Al-Khudher LA, Kshash QH. Molecular identification of *Mycoplasma agalactiae* from mastitic milk of lactating ewes in Al-Muthana province\Iraq. *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*. 2016;15(2):92-96. English.
8. Pourbakhsh SA, Abtin AR, Ashtari A, Kheirkhah B, Bayatzadeh MA, Ahangran S. Isolation and Detection of *Mycoplasma agalactiae* from Semen Samples of Goats. *Archives of Razi Institute*. 2017;72(3):159-164. Available from: <http://dx.doi.org/10.22092/ari.2017.111610>. PMID: 30341936. English.
9. Bafti MS, Pourbakhsh SA, Ezatkah M, Ashtari A. Detection of *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants of Southeast Iran. *Archives of Razi Institute*. 2017;72(4):237-242. Available from: <http://dx.doi.org/10.22092/ari.2017.113302>. PMID: 30315700. English.
10. Hajizadeh A, Ghaderi R, Ayling RD. Species of mycoplasma causing contagious agalactia in small ruminants in Northwest Iran. *Veterinaria Italiana*. 2018;54(3):205-210. Available from: <http://dx.doi.org/10.12834/VetIt.831.4072.2>. PMID: 30574997. English.
11. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLOS Medicine*. 2009;6(7). Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>. PMID: 19621072; PMCID: PMC2707599. English.



12. Santos EJM, Cunha M. Interpretação crítica dos resultados estatísticos de uma meta-análise: estratégias metodológicas. *Millennium*. 2013;85-98. Portuguese.
13. Sterne JA, Sutton AJ, Ioannidis JP, Terrin N, Jones DR, Lau J, Carpenter J, Rücker G, Harbord RM, Schmid CH, Tetzlaff J, Deeks JJ, Peters J, Macaskill P, Schwarzer G, Duval S, Altman DG, Moher D, Higgins JP. Recommendations for examining and interpreting funnel plot asymmetry in meta-analyses of randomised controlled trials. *British Medical Journal*. 2011;342. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.d4002>. PMID: 21784880. English.
14. R Core Team, 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 20 set 2020. English.
15. Di Provvido A, Scacchia M, Varasano V, Churchward C, De Caro C, Al-Momani W, Di Francesco G, Ayling RD, Lelli R, Nicholas RA. Experimental infection of goats with an unusual strain of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* isolated in Jordan. *Journal of Comparative Pathology*. 2009;141(2-3):121-126. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2008.12.007>. PMID: 19446837. English.
16. Shahzad W, Munir R, Khan MS, Ahmad M, Khan MA, Ijaz M, Shakil M, Iqbal M, Ahmad R. Characterization, Molecular Diagnosis and prevalence of caprine mycoplasmosis in different areas of Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*. 2012;44(2):559-568. English.
17. Johnson GC, Fales WH, Shoemaker BM, Adkins PR, Middleton JR, Williams F, Zinn M, Mitchell WJ, Calcutt MJ. An outbreak of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* arthritis in young goats: a case study. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2019;31(3):453-457. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1040638719835243>. PMID: 30852958; PMCID: PMC6838722. English.
18. De La Fe C, Gutiérrez A, Poveda JB, Assunção P, Ramírez AS, Fabelo F. First isolation of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum*, one of the causal agents of caprine contagious agalactia, on the island of Lanzarote (Spain). *The Veterinary Journal*. 2007;173(2):440-442. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.09.011>. PMID: 16324858. English.
19. Gil MC, Peña FJ, Hermoso De Mendoza J, Gomez L. Genital lesions in an outbreak of caprine contagious agalactia caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*. *Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 2003;50(10):484-487. Available from: <http://dx.doi.org/10.1046/j.09311793.2003.00709.x>. PMID: 14720185. English.
20. Al-Momani W, Halablab MA, Abo-Shehada MN, Miles K, McAuliffe L, Nicholas RAJ. Isolation and molecular identification of small ruminant mycoplasmas in Jordan. *Small Ruminant Research*. 2005;65(1-2):106-112. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.05.022>. English.
21. Kinde H, DaMassa AJ, Wakenell PS, Petty R. Mycoplasma infection in a commercial goat dairy caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1994;6(4):423-427. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/104063879400600404>. PMID: 7858021. English.



22. Sanchis R, Abadie G, Lambert M, Cabasse E, Dufour P, Guibert JM, Pépin M. Inoculation of lactating ewes by the intramammary route with *Mycoplasma agalactiae*: comparative pathogenicity of six field strains. *Veterinary Research*. 2000;31(3):329-337. Available from: <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2000104>. PMID: 10863949. English.
23. Kumar P, Roy A, Bhanderi BB, Pal BC. Isolation, identification and molecular characterization of mycoplasma isolates from goats of Gujarat State Gujarat State, India. *Veterinarski Arhiv*. 2011;81(4):443-458. Available from: <http://dx.doi.org/10.3923/ajava.2012.149.157>. English.
24. Todaro M, Puleio R, Sabelli C, Scatassa ML, Console A, Loria GR. Determination of milk production losses in Valle del Belice sheep following experimental infection of *Mycoplasma agalactiae*. *Small Ruminant Research*. 2014;123:167-172. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.10.005>. English.
25. Marinaro M, Greco G, Tarsitano E, Ventrella G, Camero M, Corrente M, Rezza G, Buonavoglia D. Changes in peripheral blood leucocytes of sheep experimentally infected with *Mycoplasma agalactiae*. *Veterinary Microbiology*. 2015;175(2-4):257-264. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.12.001>. English.
26. Damasceno EM, Pinheiro R R, Andrioli A, Alves FSF, Lima AMC, Peixoto RM, Araújo JF, Damasceno MS, Brandão IS. Seroprevalence and associated risk factors of *Mycoplasma agalactiae* and investigation of coinfection with the caprine lentivirus in Rio Grande do Norte, Brazil. *Tropical Animal Health and Production*. 2020;52:2111-2117. Available from: <https://dx.doi.org/10.1007/s11250-020-02234-5>. PMID: 32065335. English.
27. Zendulková D, Madanat A, Lány P, Rosenbergová K, Pospíšil Z. Detection of *Mycoplasma agalactiae* by Polymerase Chain Reaction in Jordanian Sheep and Goat Herds. *Acta Veterinaria Brunensis*. 2007;76:71-77. Available from: <http://dx.doi.org/10.2754/avb200776010071>. English.
28. Alves BHLS, Silva JG, Mota AR, Campos AC, Pinheiro Júnior JW, Santos SB, Mota RA. *Mycoplasma agalactiae* in semen and milk of goat from Pernambuco State, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2013;33(11):1309-1312. Available from: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013001100004>. English.
29. Akwuobu CA, Ayling RD, Chah KF, Oboegbulem SI. Studies into the prevalence of *Mycoplasma* species in small ruminants in Benue State, North-central Nigeria. *Tropical Animal Health and Production*. 2014;46:1087-1092. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-014-0613-6>. PMID: 24828562. English.
30. Noaman V. Identification of *Mycoplasma agalactiae* by conventional and molecular methods on small ruminants in central zone of Iran. *Comparative Clinical Pathology*. 2015;24:653-657. Available from: <http://dx.doi.org/10.22092/ari.2016.103860>. English.
31. Pooladgar AR, Looni R, Ghaemmaghani Sh, Pourbakhsh A, Ashtari A, Ali Shirudi A. Isolation and identification of *Mycoplasma agalactiae* by culture and polymerase chain reaction (PCR) from affected sheep to contagious agalactia of Khuzestan province, Iran. *Archives of Razi Institute*. 2015;70(1):21-27. English.

32. Pourbakhsh SA, Abtin AR, Ashtari A, Bayatzadeh MA, Barani SM, Asli E. Detection of *Mycoplasma capricolum capricolum* from goats of Qom province, Iran. Archives of Razi Institute. 2015;70(1):45-50. <http://dx.doi.org/10.7508/ari.2015.01.007>. English.
33. Jafarizadeh A, Pourbakhsh SA, Tadayon K, Jamshidian M, Ashtari A. Mixed infection zones may be important in the epidemiology of contagious agalactia. Journal of Veterinary Research. 2016;60:159-162. Available from: <http://dx.doi.org/10.1515/jvetres-2016-0023>. English.
34. Prats-van der Ham M, Tatay-Dualde J, De La Fe C, Paterna A, Sánchez A, Corrales JC, Contreras A, Gómez-Martín Á. Presence of *Mycoplasma agalactiae* in semen of naturally infected asymptomatic rams. Theriogenology. 2016;86(3):791-794. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.02.033>. PMID: 27045625. English.
35. Jafarizadeh A, Pourbakhsh SA, Tadayon K, Jamshidian M. Detection and Isolation of *Mycoplasma capricolum* Subspecies *capricolum* from East Azerbaijan Sheep Flocks. Archives of Razi Institute. 2017;72(4):243-248. Available from: <http://dx.doi.org/10.22092/ari.2017.113303>. PMID: 30315701. English.
36. Olaogun OM, Kanci A, Barber SR, Tivendale KA, Markham PF, Marendia MS, Browning GF. Survey of Victorian small ruminant herds for mycoplasmas associated with contagious agalactia and molecular characterisation of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* isolates from one herd. Australian Veterinary Journal. 2017;95(10):392-400. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/avj.12634>. PMID: 28948623. English.
37. Prats-van der Ham M, Tatay-Dualde J, De La Fe C, Paterna A, Sánchez A, Corrales JC, Contreras A, Gómez-Martín Á. Detecting asymptomatic rams infected with *Mycoplasma agalactiae* in ovine artificial insemination centers. Theriogenology. 2017;89:324-328. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.09.014>. PMID: 27863702. English.
38. Rahimabadi E, Asadpour Y, Pourbakhsh SA, Sayehban P. Isolation and Identification of *Mycoplasma agalactiae* by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods in the Sheep Herds in Guilan Province, Iran. Archives of Razi Institute. 2017;72(4):219-223. Available from: <http://dx.doi.org/10.22092/ari.2017.113298>. PMID: 30315697. English.
39. Santos SB, Melo RPB, Silva LTR, Oliveira JMB, Abad ACA, Pinheiro Júnior JW, Mota RA. Epidemiology of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* cluster in flocks of northeastern Brazil. Ciência Rural. 2018;48(4). Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170427>. English.
40. Abadi EH, Saadati D, Najimi M, Hassanpou M. A study on *Mycoplasma agalactiae* and *Chlamydomphila abortus* in aborted ovine fetuses in Sistan and Baluchestan region, Iran. Archives of Razi Institute. 2019;74(3):295-301. Available from: <https://dx.doi.org/10.22092/ari.2018.120393.1193>. PMID: 31592595. English.
41. Matos RAT, Santos SB, Alves RV, Silva EJ, Marinho ML, Pinheiro Júnior JW, Mota RA, Garino Júnior F. Occurrence and risk factors associated with *Mycoplasma agalactiae* infection in dairy goat herds of Paraíba State, Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2019;39(2):93-98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5538>. English.

## **CAPÍTULO II:**

Estudo etiológico para agalaxia contagiosa em condições semiáridas

Trabalho a ser submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

Estudo etiológico para agalaxia contagiosa em condições semiáridas<sup>1</sup>

Natanael S. Silva<sup>2</sup>, Maria L.C.R. Silva<sup>2</sup>, Edna K. Pereira<sup>2</sup>, João P. Araújo júnior<sup>3</sup>, Camila D. Malossi<sup>3</sup>, Leila S. Ullmann<sup>3</sup>, Edisio O. Azevedo<sup>4</sup>, Marcia A. Melo<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Silva N.S., Silva. M.L.C.R., Siqueira I.N., Santos J.F.N., Pereira E.K., Marinho M.L., Azevedo E.O. & Melo M.A. 2020. **Etiological study of contagious agalaxia in dairy goats in the semiarid region of Northeast Brazil.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* xx(x):xxx-xxx. Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: natanaelvet@gmail.com; marcia.melo@ufcg.edu.br

Contagious agalaxia is a disease of small ruminants, economically important, endemic in some Brazilian states and *Mycoplasma agalactiae* is the main etiological agent. The objective of this study was to carry out an etiological study of agalaxia contagiosa in herds of dairy goats in the semiarid region of Northeast Brazil. 207 lactating goats were used, totaling 414 milk samples from 30 herds and 90 samples from three herds with clinical cases of the disease characterized by agalaxia and keratoconjunctivitis. Positive cultures were subjected to PCR with species-specific primers for *M. agalactiae*, *M. mycoides* Cluster and *M. putrefaciens*. Of the 90 animals in the outbreak, 80% (72/90) were positive in lactoculture, of these 78.75% (63/72) were detected by PCR as being *Ma*. Of the analyzed samples 48.31% (200/414) showed growth bacteriological, of these 42.5% (85/200) were positive for *Ma*, with no identification of *M. putrefaciens* and *M. mycoides* cluster. *M. agalactiae* remains the main etiological agent of CA in Brazil in herds in the Brazilian semiarid region.

INDEX TERMS: Contagious agalaxia, goats, mastitis, agalaxia, keratoconjunctivitis, *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma putrefaciens*, *Mycoplasma mycoides* Cluster.

**RESUMO.-** [Estudo etiológico para agalaxia contagiosa em condições semiáridas.] A agalaxia contagiosa é uma enfermidade de pequenos ruminantes, economicamente importante, endêmica em alguns estados brasileiros e o *Mycoplasma agalactiae* é o principal agente etiológico. O objetivo deste estudo foi realizar um estudo etiológico da AC em rebanhos de cabras leiteiras na região semiárida do Nordeste do Brasil. Foram utilizadas 207 cabras lactantes, totalizando 414 amostras de leite oriundas de 30 rebanhos e 90 amostras de três rebanhos com casos clínicos da doença caracterizados por agalaxia e ceratoconjuntivite. Os cultivos positivos foram submetidos a PCR com iniciadores espécies-específicos para *M. agalactiae*, *M. mycoides* Cluster e *M. putrefaciens*. Dos 90 animais do surto, 80% (72/90) foram positivas na lactocultura, destas 78,75% (63/72) foram detectadas pela PCR como sendo *Ma*. Das amostras analisadas 48,31% (200/414) apresentaram crescimento bacteriológico, destas 42,5% (85/200) foram positivas para *Ma*, não havendo identificação do

<sup>1</sup> Recebido em

Aceito para publicação em

<sup>2</sup> Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos-PB, 58708-110, Brasil. Autor para correspondência: [natanaelvet@gmail.com](mailto:natanaelvet@gmail.com); [marcia.melo@ufcg.edu.br](mailto:marcia.melo@ufcg.edu.br)

<sup>3</sup> Universidade estadual Paulista, Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n, Botucatu/SP, 18618-681.

<sup>4</sup> Universidade Federal de Sergipe, Av. Marechal Rondon, s/n - Jardim Rosa Elze, São Cristóvão-SE, 49100-000, Brasil.

*M. putrefaciens* e *M. mycoides* cluster. O *M. agalactiae* continua sendo o principal agente etiológico da AC no Brasil em rebanhos no semiárido brasileiro.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Agalaxia Contagiosa, caprino, mastite, agalaxia, ceratoconjuntivite, *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma putrefaciens*, *Mycoplasma mycoides* Cluster.

## INTRODUÇÃO

A agalaxia contagiosa (AC) tem como principal agente etiológico o *Mycoplasma agalactiae* (*Ma*), no entanto, outras espécies podem estar envolvidas, como o *M. mycoides* cluster (*Mm*<sub>cluster</sub>) que contempla cinco espécies e subespécies de micoplasmas que compartilham características genotípicas e fenotípicas, destes, três estão descritos como agentes etiológicos da AC (*M. mycoides* subsp. *mycoides* small colony (*MmmSC*), *M. mycoides* subsp. *capri* (*Mmc*), *M. capricolum* subsp. *capricolum* (*Mcc*)) e *Mycoplasma putrefaciens* (*Mp*) (Kumar et al. 2014).

No Brasil, a AC afeta principalmente caprinos devido a sua utilização para produção leiteira, tendo como tríade sintomatologia a presença de mastite e ou agalaxia, artrite e conjuntivite, entretanto, esporadicamente são observados casos de aborto, pneumonia e transmissão transplacentária (Azevedo et al. 2006, Silva et al. 2013; 2014). Apesar de ter sido constatado a presença micoplasmas por isolamento e reação em cadeia da polimerase (PCR) diretamente de suabes vaginais e sêmen, a transmissão venérea ainda não foi confirmada (Gil et al. 2003, Amores et al. 2011, Gómez Martín et al. 2012, Alves et al. 2013, Moraes et al. 2017, Santos et al. 2018).

A identificação das espécies de micoplasmas que causam a AC é um fator crucial para elaboração de medidas sanitárias, visando o controle da enfermidade no Brasil. Conseqüentemente, objetivou-se realizar um estudo etiológico para AC em amostras de leite cru provenientes de cabras leiteiras naturalmente infectadas por meio da lactocultura seguido de realização da PCR.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos municípios de Amparo, Cabaceiras, Ouro Velho, Prata, São Sebastião do Umbuzeiro no estado da Paraíba e Sertânia em Pernambuco. As propriedades foram selecionadas por conveniência de acordo com a disponibilidade dos produtores rurais através da articulação com as associações de criadores de caprinos leiteiros. A região está localizada em plena “diagonal seca”, onde se observam os menores índices de precipitação

pluviométrica do Semiárido brasileiro, com médias anuais históricas inferiores a 400 mm. O clima regional (Bsh) se caracteriza por elevadas temperaturas (médias anuais em torno de 26°C), fracas amplitudes térmicas anuais e chuvas escassas, muito concentradas no tempo e irregulares (Nascimento & Alves, 2008).

Os produtores de leite caprino da região são em sua maioria são detentores de reduzidas propriedades rurais e de pequenos rebanhos constituídos por cerca de 20 a 30 animais, mestiços através do cruzamento com raças exóticas de origem europeia (Alpina Britânica, Parda Alpina, Saanen, Toggenburg). As coletas foram realizadas em pleno período chuvoso do ano de 2018 entre os meses de abril a junho, no estado da Paraíba, e no final do mesmo em setembro no município de Sertânia, estado de Pernambuco. Com efetivo rebanho de 35.859 caprinos, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (Brasil, 2017), o tamanho da amostra foi determinado pela fórmula 
$$\left[ \frac{z^2 * p(1-p)}{e^2} \right] / \left[ 1 + \frac{z^2 * p(1-p)}{e^2 * N} \right]$$
, sendo: z – o grau de confiança de 95%, e - margem de erro 5% e p - constante de 0,5. Com isso, chegou-se ao número de 384 amostras a serem utilizadas na pesquisa. Considerou-se cada metade individual do úbere uma unidade amostral. Trinta propriedades foram selecionadas no total, sendo cinco por município. Optou-se por coletar o mínimo de seis animais por propriedade, entretanto, foram utilizadas 207 cabras em diferentes estágios de lactação, totalizando 414 amostras. Em três rebanhos, as coletas foram realizadas logo após o aparecimento dos sinais clínicos em 46 animais, possibilitando identificar o agente etiológico na ocorrência dos surtos.

Para as coletas, os tetos foram limpos e desinfetados com solução de hipoclorito a 0,5%, seguido de secagem com papel toalha individual, desinfecção dos orifícios dos tetos com álcool a 70% e descarte dos primeiros jatos. Amostras de leite de cada teto destinado ao cultivo bacteriano foram acondicionadas em tubos de ensaio com igual volume de solução salina glicerinada (v/v) e penicilina 2000 UI/mL e transportadas em caixa de material isotérmico contendo recipientes com gelo até o Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sendo mantidas a -20°C até processamento.

Para cultivo de *Mycoplasma* spp., as amostras de leite foram cultivadas conforme Whitford (1994) com as modificações descritas por Azevedo et al. (2006), considerando positivas o isolamento de colônias com aspecto de ovo frito ou mamilar, presença de biofilme e manchas.

As culturas positivas foram submetidas à extração do DNA usando kit comercial (Wizard SV Genomic DNA purification System®; Promega Corporation, Madison, WI, USA)

seguindo protocolo do fabricante. O DNA foi submetido a PCR espécie-específica para o *Ma*, e as amostras negativas foram testadas para cluster *mycoides* e, posteriormente, para *Mp*. As reações foram realizadas para o volume final de 50 µL, contendo 5,0 µL DNA, 5,0 µL buffer com 100 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3) e 500 mmol/L KCl, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP mix, 0,3 mM de cada primer forward e reverse, 1,5 µL KB Extender, 2 U de Platinum™ *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen, BR), seguindo as condições de termociclagem descritas na Tabela 1. Os produtos da PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%. A visualização e fotodocumentação dos produtos foram realizadas sob luz ultravioleta. O controle positivo foi realizado com cepa de *M. Agalactiae* isolada no estado da Paraíba (BrPB01) e como controle negativo água ultrapura DNase e RNase free.

**Tabela 1:** Referências dos primers para PCR convencional espécie específica para diagnóstico da agalaxia contagiosa.

Espécies pesquisadas	Sequência (5'-3')	Identificação	Ciclagem	Tamanho (bp)	Referência
<i>M. agalactiae</i>	CCTTTTAGATTGGGATAG CGGATG	MAF	94° - 120'' 94° - 30''	360	Azevedo et al. 2006
	CCGTCAAGGTAGCGTCAT TTCCTAC	MAR	58° - 30'' 72° - 60'' 72° - 600''		
<i>M. mycoides</i> Cluster	TATATGGAGTAAAAAGA C	MMF	94° - 120'' 94° - 30''	253-265	Hotzel et al. 2003, Hajizadeh et al. 2018
	AATGCATCATAAATAATT G	MMR	49° - 30'' 72° - 60'' 72° - 600''		
<i>M. putrefaciens</i>	AAATTGTTGAAAAATTAG CGCGAC	MPF	94° - 120'' 94° - 60''	316	Peyraud et al. 2003 Hajizadeh et al. 2018
	CATATCATCAACTAGATT AATAGTAGCACC	MPR	55° - 60'' 72° - 60'' 72° - 600''		

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rebanhos leiteiros estudados apresentaram animais com infecções subclínicas e clínicas, caracterizada por agalaxia e ceratoconjuntivite. Os surtos de AC ocorreram após introdução de animais enfermos nos rebanhos, acometendo todas as cabras em lactação, causando agalaxia e um caso de ceratoconjuntivite; as demais categorias animais não foram acometidas (Tabela 2). Isto pode ser atribuído à alta titulação de anticorpos nos animais, conferindo resistência imunológica por se tratar de uma região endêmica. Das 90 amostras coletadas, 80% (72/90) foram positivas na lactocultura, destas 78,75% (63/72) foram detectadas pela PCR como sendo *Ma*, confirmando os achados de Azevedo *et al.* (2006), que relataram apenas o *Ma* em casos clínicos de AC em pequenos ruminantes no Brasil. Nota-se

que a comercialização de animais entre produtores continua sendo o principal fator desencadeante de surtos de AC em rebanhos de caprinos leiteiros e a alta frequência de *Ma* observada neste estudo enfatiza a importância de seu diagnóstico para estabelecer medidas sanitárias e de controle.

**Tabela 2:** Municípios com rebanhos de cabras leiteiras acometidos por agalaxia contagiosa clínica na região Nordeste do Brasil, no período de abril a setembro de 2018.

Rebanho	Localidade	Nº cabras lactantes	Nº amostras coletadas	Sinal clínico
A	Sertânea-PE	17	32	Agalaxia
B	Amparo-PB	18	36	Agalaxia + ceratoconjuntivite
C	Amparo-PB	11	22	Agalaxia

PB – Paraíba; PE – Pernambuco.

Das amostras analisadas oriundas dos rebanhos assintomáticos, 34,54% (143/414) apresentaram crescimento bacteriológico, destas 59,44% (85/143) foram positivas para *Ma*, o *Mm<sub>cluster</sub>* e *Mp* não foram detectados por análise da PCR. Os resultados corroboram com os achados de Azevedo *et al.* (2006) e Castilho Jr. (2017) em trabalhos realizados na região Nordeste, que citam o *Ma* como principal agente etiológico da AC e a não detecção do *Mm<sub>cluster</sub>* em amostras genitais, nasais e oculares de caprinos.

A importância do *Mp* na AC não é clara, apesar do mesmo ter sido relacionado a mastite, agalaxia, poliartrite em cabritos, lesões genitais e queda brusca na produção de leite em animais com e sem sinais clínicos evidentes (DaMassa *et al.* 1987, Rodriguez *et al.* 1994, Gil *et al.* 2003). Santos *et al.* (2018) observaram a ocorrência de *Ma* e *Mm<sub>cluster</sub>* em 12% (27/225) e 5,3% (12/225) das amostras de leite, respectivamente, analisadas no estado de Pernambuco. Esses mesmos autores identificaram *Mm<sub>cluster</sub>* em 5,2% das amostras de leite de cabra no município de Sertânia, que também fez parte deste trabalho. Em 2019, Lopes *et al.* relataram a presença de *Mm<sub>cluster</sub>*, em leite de cabras das raças Moxotó, Parda Sertaneja e sem padrão racial definido nos estados de Pernambuco e Paraíba. A ausência de isolamento do *Mm<sub>cluster</sub>* neste trabalho pode ser devido às diferenças nos rebanhos estudados quanto aos fatores de risco, manejo do rebanho, secreção intermitente da bactéria e época do ano como observado por Ariza-Miguel *et al.* (2012).

Pode-se sugerir o possível envolvimento de outras bactérias da Classe *Mollicutes* nos casos de AC na região estudada, uma vez que em 40,56% (58/143) dos isolados, não houve



amplificação de DNA para as espécies pesquisadas. Almeida *et al.* (2007) utilizaram protocolos e *primers* espécies-específicos para a detecção de *Mycoplasma* spp. e *Ma* em leite de cabras com e sem sintomatologia clínica de AC e obtiveram maior positividade para *Mycoplasma* spp., que pode ser explicado pela possível presença de outras espécies. Hajzadeh *et al.* (2018), no Irã, das 132 amostras coletadas de pequenos ruminantes, 25% (33/132) foram positivas para *Mycoplasma* spp., entre estas, 54,55% (18/33) apresentaram infecção mista, sendo identificados em 47,2% *Ma*, em 43,4% *Mp*, em 7,5% *Mcc* e em 1,9% *Mmc*, demonstrando que várias espécies de *Mycoplasma* spp., estão em circulação e capazes de causar AC em pequenos ruminantes. Al-Momani *et al.* (2005) relataram o isolamento de *MmmLC*, *Mcc*, *Mp* e *Ma* em 104 rebanhos de caprinos e ovinos com sintomatologia clínica da AC, havendo ainda isolados que não foram identificados.

## CONCLUSÃO

O *M. agalactiae* continua sendo o principal agente etiológico da agalaxia contagiosa na região semiárida dos estados da Paraíba e Pernambuco, responsável por infecções subclínicas e clínicas em rebanhos de cabras leiteiras. Dessa forma, protocolos sanitários precisam ser implantados pelos órgãos sanitários oficiais buscando seu controle, visando impedir a transmissão intra e entre rebanhos, a propagação para outras regiões do Brasil, acarretando sérios prejuízos econômicos.

## Agradecimentos

A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado, e a todos os produtores que nos receberam gentilmente em suas propriedades disponibilizando seus animais para pesquisa.

**Declaração de conflito de interesse.**- Não há conflito de interesses entre os autores.

## REFERÊNCIAS

- Almeida J.F., Nascimento E.R., Pereira V.L.A., Barreto M.L., Campos C.A.M. & Azevedo E.O. 2007. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) no diagnóstico de micoplasmose caprina a partir de cultivos estocados em glicerina. Revista Brasileira de Medicina Veterinária. 29:54-57.
- Al-Momani W., Halablab M.A., Abo-Shehada M.N., Miles K., McAuliffe L. & Nicholas R.A.J. 2005. Isolation and molecular identification of small ruminant mycoplasmas in Jordan. Small Ruminant Research. 65:106-112. <<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.05.022>>

Al-Momani, W., Halablal, M.A., Abo-Shehada, M.N., McAuliffe, L., Miles, K. & Nicholas, R.A.J., 2006. Isolation and characterisation of small ruminant mycoplasmas in Jordan using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and specific PCR. *Small Ruminant Research*. In press.

Alves B.H.L.S., Silva J.G., Mota A.R., Campos A.C., Pinheiro Júnior J.W., Santos S.B. & Mota, R.A. *Mycoplasma agalactiae* in semen and milk of goat from Pernambuco State, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(11):1309-1312. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013001100004>>

Amores J., Gómez-Martín A., Corrales J.C., Sánchez A., Contreras A. & De la Fe C. 2011. Presence of contagious agalactia causing mycoplasmas in Spanish goat artificial insemination centres. *Theriogenology*. 75:1265-1270. <<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.040>>

Ariza-Miguel J., Rodríguez-Lázaro D. & Hernández M. A survey of *Mycoplasma agalactiae* in dairy sheep farms in Spain. *BMC Veterinary Research*. 8(1):1-6, 2012. <<https://doi.org/10.1186/174661488171>>

Azevedo E.O., Alcântara M.D.B., Nascimento E.R., Tabosa I.M., Barreto M.L., Almeida J.F., Araújo M.D., Rodrigues A.R.O., Riet-Correa F. & Castro R.S. 2006. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37(4):576-581. <<https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000400033>>

Brasil. 2017. Pesquisa da pecuária municipal. Rio de Janeiro: IBGE. Acessado em: 12 fev 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>.

Castilho Junior, R.E. 2017. Detecção molecular de Mollicutes em caprinos do sudeste da Bahia, Brasil: estudo transversal. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo. 83p.

Da Massa A.J., Brooks D.L., Holmberg C.A. & Moe A.I. 1987. Caprine mycoplasmosis: an outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *Veterinary Record*. 120(17):409-413. <<https://doi.org/10.1136/vr.120.17.409>>

Gil A.M.C., Peña F.J., Hermoso De Mendoza J. & Gomez L. 2003. Genital lesions in an outbreak of caprine contagious agalactia caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*. *Journal Veterinary Medicine B*. 50(10):484-487. <<https://doi.org/10.1046/j.0931-1793.2003.00709.x>>

Gómez-Martín A.A., Corrales J.C., Amores J., Sánchez A., Contreras A., Paterna A. & De la Fe C. 2012. Controlling contagious agalactia in artificial insemination centers for goats and detection of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in semen. *Theriogenology*. 77(6):1252-1256. <<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.006>>

Hajizadeh A., Ghaderi R. & Ayling R.D. 2018. Species of mycoplasma causing contagious agalactia in small ruminants in Northwest Iran. *Veterinaria Italiana*. 54(3):205-210. <<https://doi.org/10.12834/VetIt.831.4072.2>>

Hotzel H., Frey J., Bashiruddin J. & Sachse K. 2003. Detection and differentiation of ruminant mycoplasmas, p.231-245. In: Sachse K. & Frey J. (Eds), PCR Detection of Microbial Pathogens. Methods Molecular Biology. Vol.216. Humana Press, Clifton. <<https://doi.org/10.1385/1-59259-344-5:231>>

Kumar A., Rahal A., Chakraborty S., Verma A.K. & Dhama K. 2014. *Mycoplasma agalactiae*, an etiological agent of contagious agalactia in small ruminants: a review. Veterinary Medicine International. 13p. <<https://doi.org/10.1155/2014/286752>>

Lopes L.F.V., Silva E.C., Moraes A.C.A., Silva E.R., Santoro K.R., Batista A.M.V. & Barbosa S.B.P. 2019. *Mycoplasma agalactiae* and the *Mycoplasma mycoides* cluster in goat herds in the states of Pernambuco and Paraíba, Brazil. Semina: Ciências Agrárias. 40(5):2261-2270. <<https://doi.org/10.5433/1679-0359>>

Matos R.A.T., Santos S.B., Alves R.V., Silva E.J., Marinho M.L., Pinheiro Júnior J.W., Mota R.A. & Garino Júnior F. 2019. Occurrence and risk factors associated with *Mycoplasma agalactiae* infection in dairy goat herds of Paraíba State, Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira. 39(2):93-98. <<https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5538>>

Moraes A.G.M., Cordeiro A.A., Silva N.S., Campos A.C., Melo M.A. & Azevedo E.O. 2017. Isolamento de *Mycoplasma* spp. no trato reprodutivo de pequenos ruminantes no semiárido paraibano. Archives of Veterinary Science. 22(2):18-22. <<http://dx.doi.org/10.5380/avs.v22i2.39858>>

Nascimento E.R., Barreto M.L., Platenik M.O., Azevedo E.O., Tabosa I.M., Alcântara M.D.B., Almeida J.F., Nascimento M.G.F. 2002. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in goats in Brazil. Etiologic study. Anais XIV International Congress Organization Mycoplasma, Vienna, p.45-46. (Resumo)

Nascimento S.S., Alves J.J.A. Um alerta ambiental do grau da desertificação no Estado da Paraíba. Encontro internacional de geografia: tradições e perspectivas. Universidade de São Paulo-USP, 2008.

Peyraud A., Woubit S., Poveda J.B., De la Fe C., Mercier P. & Thiaucourt F. 2003. A specific PCR for the detection of *Mycoplasma putrefaciens*, one of the agents of the contagious agalactia syndrome of goats. Molecular and Cellular Probes. 17(6):289-294. <<https://doi.org/10.1016/j.mcp.2003.07.006>> <PMID:14602479>

Rodríguez J.L., Poveda J.B., Gutiérrez C., Acosta B. & Fernández A. 1994. Polyarthrititis in kids associated with *Mycoplasma putrefaciens*. Veterinary Record. 135(17):406-407. <<http://dx.doi.org/10.1136/vr.135.17.406>>

Santos S.B., Melo R.P.B., Silva L.T.R., Oliveira J.M.B., Abad A.C.A., Pinheiro Júnior J.W. & Mota R.A. 2018. Epidemiology of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* cluster in flocks of northeastern Brazil. Ciência Rural. 48(4):1-8. <<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170427>>

Silva N.S., Marinho M.L., Azevedo E.O., Campos A.C. & Carvalho M.G.X. 2013. Tratamento alopático e homeopático em caprinos com agalaxia contagiosa: estudo comparativo. *Archives of Veterinary Science*. 18(4):57-64. <<http://dx.doi.org/10.5380/avs.v18i4.31114>>

Silva N.S., Azevedo E.O., Campos A.C., Cordeiro A.A., Mamede A.G., Silva R.B.S., Castro R.S., Nascimento E.R. & Marinho M.L. 2014. Infecção congênita em cabritos por *Mycoplasma agalactiae*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 66(2):631-634. <<https://doi.org/10.1590/1678-41626625>>

Whitford, H.W., Rosenbusch, R.F. & Lauerman, L.H. 1994. *Mycoplasmosis in Animals: Laboratory Diagnosis*. Blackwell Publishing Professional, Iowa. 186p.

### **CAPÍTULO III:**

Efeito da micoplasmose e mastite subclínica no perfil celular e composição química do leite caprino

Trabalho a ser submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

Efeito da micoplasmose e mastite subclínica no perfil celular e composição química do leite caprino<sup>1</sup>

Natanael S. Silva<sup>2</sup>, Iara N. Siqueira<sup>2</sup>, Dannelly H.F. Freire<sup>2</sup>, José E. M. Carvalho Júnior<sup>2</sup>,  
Melânia L. Marinho<sup>2</sup>, Edisio O. Azevedo<sup>3</sup>, José M. Pereira Filho<sup>2</sup>, Marcia A. Melo<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Silva N.S., Siqueira I.N., Carvalho Júnior J.E.M., Freire D.H.F., Marinho M.L., Azevedo E.O., Pereira Filho J.M. & Melo M.A. 2020. **Effect of mycoplasmosis and subclinical mastitis on the cellular profile and chemical composition of goat milk.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* xx(x):xxx-xxx. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: [natanaelvet@gmail.com](mailto:natanaelvet@gmail.com); [marcia.melo@ufcg.edu.br](mailto:marcia.melo@ufcg.edu.br)

Mammary gland infection in goats affects milk quality by altering capillary permeability. In addition to conventional etiological agents for subclinical mastitis, the Northeast region of Brazil in certain microregions is endemic to mycoplasmosis, and previous research has not taken into account the impact of this infection on milk constituents, despite its high endemicity. We sought to evaluate the impact that both infections have on the cellular profile and chemical composition of goat milk. 30 properties were selected from five municipalities in the States of Paraíba and Pernambuco and a total of 207 goats at different stages of lactation were used, considering each individual half of the udder for analysis. Conventional agents of subclinical mastitis influenced somatic cell count and mycoplasmosis cases were significant for chemical composition of goat milk, especially when there was coinfection. This paper reports coinfection in dairy goats by conventional etiologic agents for subclinical mastitis and *Mycoplasma* spp. in the Northeast region of Brazil.

INDEX TERMS: goats; subclinical mastitis; mycoplasmosis; coinfection, cell profile, chemical composition; *Mycoplasma* spp

**RESUMO.- [Efeito da micoplasmose e mastite subclínica no perfil celular e composição química do leite caprino.]** A infecção da glândula mamária em caprinos afeta a qualidade do leite por alterar a permeabilidade capilar. Além dos agentes etiológicos convencionais para mastite subclínica, a região Nordeste do Brasil, em determinadas microrregiões, apresenta-se endêmica para micoplasmose e pesquisas anteriormente realizadas não levaram em conta o impacto dessa infecção nos constituintes do leite. Assim, através deste trabalho buscou-se avaliar o impacto que ambas as infecções apresentam sobre o perfil celular e a composição química do leite caprino. Trinta propriedades foram selecionadas em seis municípios dos estados da Paraíba e Pernambuco, e um total de 207 cabras em diferentes estágios de lactação foram utilizadas. Foi observado aumento na contagem de células somáticas nas glândulas mamárias positivas para mastite subclínica e efeito deletério na composição química nos casos de micoplasmose, especialmente quando houve coinfeção. Este trabalho relata

<sup>1</sup> Recebido em

Aceito para publicação em

<sup>2</sup> Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal. Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos-PB, 58708-110, Brasil. Autores para correspondência: [natanaelvet@gmail.com](mailto:natanaelvet@gmail.com); [marcia.melo@ufcg.edu.br](mailto:marcia.melo@ufcg.edu.br)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Sergipe, Av. Marechal Rondon, s/n - Jardim Rosa Elze, São Cristóvão-SE, 49100-000, Brasil.

coinfecção em cabras leiteiras por agentes etiológicos convencionais para mastite subclínica e *Mycoplasma* spp. na região Nordeste do Brasil.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** caprinos, mastite subclínica, micoplasmose, coinfeção, perfil celular, composição química; *Mycoplasma* spp

## INTRODUÇÃO

A infecção na glândula mamária influencia diretamente a qualidade do leite caprino, e quando presente afeta a contagem de células somáticas (CCS) e sua composição química (CQ), culminando com a redução da secreção do leite, da porcentagem de gordura, lactose e sólidos totais, e com aumento da CCS e proteína, devido à alteração da permeabilidade capilar, do processo de síntese e filtragem do tecido secretor ocasionado pela ação direta de patógenos ou de suas enzimas (Pereira et al. 1999, Machado et al. 2000, Prada & Silva et al. 2000, Pirisi et al. 2007).

O leite caprino apresenta CCS fisiológica elevada em comparação ao bovino. Segundo Zeng (1996), não é rara a ocorrência de cabras com contagens superiores a  $1 \times 10^6$  células/mL, mesmo com ausência de infecções intramamárias. A Instrução Normativa nº 37 de 31/10/2000 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2000), que regulamenta o leite de cabra, estabelece valores mínimos de 2,8%, 4,3% e 8,2% para proteína, lactose e extrato seco desengordurado (ESD), respectivamente, e teor original para gordura, não estabelecendo um limite padrão para CCS.

Por sua vez, a correlação entre a presença de microrganismos na glândula mamária e a qualidade do leite caprino tem sido realizada em diferentes pesquisas. No entanto, a maioria dos trabalhos não têm considerado infecções causadas por bactérias do gênero *Mycoplasma* spp., apesar de seu caráter endêmico em algumas microrregiões na região Nordeste do Brasil, desde seu primeiro relato descrito por Azevedo et al. (2006) no estado da Paraíba. Estudos posteriores observaram 7,5% a 56,47% de prevalência, dependendo da metodologia e local de pesquisa, sendo que, aproximadamente, 20% dos rebanhos apresentam-se infectados com taxas de animais positivos variando entre 10% e 100% (Bandeira et al. 2008, Alcântara 2010), seu caráter endêmico pode servir de fonte de infecção para outras regiões através da comercialização de animais para reprodução, uma vez que medidas sanitárias ainda não foram implementadas pelos órgãos sanitários oficiais.

Considerando a importância da caprinocultura leiteira para a região Nordeste do Brasil e as perdas econômicas das mastites no sistema de criação, o objetivo deste trabalho foi avaliar

o impacto da presença de bactérias sobre o perfil celular e a composição química do leite caprino.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos municípios de Amparo, Cabaceiras, Ouro Velho, Prata, São Sebastião do Umbuzeiro no estado da Paraíba e Sertânia em Pernambuco. As propriedades foram selecionadas por conveniência de acordo com a disponibilidade dos produtores rurais através da articulação com as associações de criadores de caprinos leiteiros. A região está localizada em plena “diagonal seca”, onde se observam os menores índices de precipitação pluviométrica do Semiárido brasileiro, com médias anuais históricas inferiores a 400 mm. O clima regional (Bsh) se caracteriza por elevadas temperaturas (médias anuais em torno de 26°C), fracas amplitudes térmicas anuais e chuvas escassas, muito concentradas no tempo e irregulares (Nascimento & Alves, 2008).

As coletas foram realizadas em pleno período chuvoso do ano de 2018 entre os meses de abril a junho, no estado da Paraíba, e no final do mesmo em setembro no município de Sertânia estado de Pernambuco. Com efetivo rebanho de 35.859 caprinos, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (Brasil, 2017), o tamanho da amostra foi determinado pela fórmula 
$$\left[ \frac{z^2 * p(1-p)}{e^2} \right] / \left[ 1 + \left[ \frac{z^2 * p(1-p)}{e^2} \right] * N \right]$$
, sendo: z – grau de confiança de 95%, e - margem de erro 5% e p - constante de 0,5. Com isso, chegou-se ao número de 384 amostras a serem utilizadas na pesquisa. Considerou-se cada metade individual do úbere uma unidade amostral. Trinta propriedades foram selecionadas no total, sendo cinco por município. Optou-se por coletar o mínimo de seis animais por propriedade, entretanto, foram utilizadas 207 cabras em diferentes estágios de lactação, totalizando 414 amostras.

Os tetos foram limpos e desinfetados com uso de solução de hipoclorito a 0,5%, seguido de secagem com papel toalha individual, desinfecção dos orifícios dos tetos com álcool a 70% e descarte dos primeiros jatos. As amostras de leite de cada teto foram coletadas em tubos de ensaio de 10 mL e acondicionadas em caixa de material isotérmico contendo recipientes com gelo para transporte ao laboratório e logo em seguida armazenadas a -20°C até seu processamento. Para cultivo de *Mycoplasma* spp. as amostras foram acondicionadas com igual volume de solução salina glicerizada (v/v) e penicilina 2000 UI/mL.

Para cultivo de *Mycoplasma* spp, as amostras de leite foram cultivadas conforme Whitford (1994), com modificações descritas por Azevedo et al. (2006), considerando positivas o isolamento de colônias com aspecto de ovo frito ou mamilar, presença de biofilme e manchas. Para as demais bactérias, as amostras foram cultivadas em meio ágar sangue ovino



5% e MacConkey, seguido de realização da coloração de Gram conforme descrito por Langoni et al. (2006). Os espécimes foram identificados por meio da espectrometria de massa em tempo de voo (MALDI-TOF) através do software Bruker Daltonik MALDI Biotyper<sup>®</sup>.

Para a CCS e determinação da CQ (gordura, proteína, caseína, lactose, ESD e sólidos totais), a coleta foi realizada em frascos com capacidade para 50 mL, tendo como conservante o Bronopol<sup>®</sup> (2-bromo-2nitropropane-1,3-diol), e determinados por citometria de fluxo em equipamento Somacount 300<sup>®</sup> e espectrofotometria por radiação infravermelha em equipamento Bentley 2000<sup>®</sup>, respectivamente.

Os valores da CCS foram classificados em três categorias como descrito por Souza et al. (2009) em: 1-  $< 750 \times 10^3$  células/mL; 2-  $751 \times 10^3$  a  $1 \times 10^6$  células/mL; 3-  $\geq 1 \times 10^6$  células/mL, os memsos foram ajustados com uma redução de 25,75% devido a presença dos corpúsculos citoplasmáticos (Zeng 1996, Zeng et al. 1999). Os resultados da composição química foram comparados com os valores estabelecidos pela legislação vigente (Brasil, 2000).

A análise de variância foi utilizada para associar a CCS, CQ ao estado bacteriológico. As médias foram comparadas pelo teste T, utilizando programa estatístico SAS (2007), através do procedimento GLM para as variáveis quantitativas e procedimento FREQ para variáveis qualitativas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 414 amostras analisadas, 48,31% (200) foram positivas no exame microbiológico, em 7,73% (32/414) houve associação de dois ou mais agentes etiológicos. Dos 233 isolados encontrados, 61,37% (143/233) foram do gênero *Mycoplasma* spp., 36,05% (84/233) *Staphylococcus* spp., 1,71% (4/233) *Bacillus* spp., 0,43% (1/233) *Klebsiela* spp. e 0,43% (1/233) *Micrococcus* spp. (Tabela 1).

**Tabela 1** – Bactérias isoladas de mastites subclínicas em cabras no semiárido dos estados da Paraíba e Pernambuco de abril a setembro 2018.

Bactérias isoladas	Total de isolados	Percentual (%)
<i>Mycoplasma</i> spp.	143	61,37
<i>Staphylococcus epidermicus</i>	24	10,30
<i>Staphylococcus caprae</i>	21	9,01
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	9	3,86
<i>Staphylococcus simulans</i>	6	2,58
<i>Staphylococcus xylosus</i>	4	1,72
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	1,29
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	2	0,86
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	0,43
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0,43
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	1	0,43
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	0,43
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	1	0,43
<i>Micrococcus luteus</i>	1	0,43
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,43
<i>Bacillus</i> spp.*	3	1,29
<i>Staphylococcus</i> spp.*	11	4,72
Total	233	100,00

\*Espécies não identificadas pela técnica de MALDI-TOF.

Ao correlacionar os isolamentos, observou-se coinfeção entre *Mycoplasma* spp. e *Staphylococcus* spp. de 93,75% (30/32) seguido de *Mycoplasma* spp. + *Micrococcus* spp. e *Mycoplasma* spp. + *Staphylococcus* spp. + *Bacillus* spp. com 3,13% (1/32) cada. Esses dados confirmam a associação de microrganismos nos casos de AC em caprinos no Brasil e corrobora com trabalho realizado por Contreras *et al.* (1995) em Múrcia, na Espanha, no entanto, não relataram se houve coinfeção. Pesquisas buscando avaliar a associação dos agentes causadores – da micoplasmose e mastite subclínica já foram desenvolvidas no Brasil, mas devido à dificuldade no isolamento, utilização de meios seletivos e ao uso indiscriminado de antimicrobianos por parte dos produtores, não obtiveram êxito (AZEVEDO, 2005).

A AC no Brasil é endêmica em algumas microrregiões com prevalência que podem variar de 7,5% a 56,47% diagnosticado pela PCR ou por teste imunoenzimático indireto (Bandeira *et al.* 2008, Alcântara, 2010). Moraes (2017) avaliou a infecção da glândula mamária em cabras nos estados da Paraíba e Pernambuco e encontrou uma prevalência de

60,80% (183/301) para *Mycoplasma* spp. e 38,54% (116/301) para *Staphylococcus* spp. entre os isolados. Santos *et al.* (2018) em trabalho realizado em quatro municípios do estado de Pernambuco observou frequência para o *M. agalactiae* em amostras de leite caprino de 12% (27/225) e de 5,3% (12/225) para *M. mycoides* cluster. Dos swabs vaginais de cabras as frequências detectadas na PCR no mesmo trabalho foram de 15,4% (12/78) para *M. agalactiae* e 3,8% (3/78) para *M. mycoides* cluster. Entretanto, apesar dos autores relatarem apenas a ocorrência do *M. mycoides* cluster em amostras de leite do município de Sertânia, o mesmo não foi detectado na presente pesquisa, sendo constatado a presença exclusiva do *M. agalactiae*.

Pooladegar *et al.* (2014) encontraram 37,36% de amostras positivas para o *Mycoplasma* spp. por isolamento em rebanhos de ovinos e Khezri *et al.* (2012) observaram 66,7% de positividade, com 32,6% dos isolados classificados como *M. agalactiae*. As pesquisas no Brasil precisam priorizar a identificação de espécies de *Mycoplasma* spp. isolados no país, uma vez que o *M. mycoides* cluster já foi identificado em amostras de leite e swabs vaginais de caprinos e ovinos (Almeida *et al.* 2007; Santos *et al.*, 2018; Lopes *et al.*, 2019), comprovando a circulação de outros agentes da AC nos rebanhos nacionais. Este dado é importante para definir medidas de controle da endemia. Estima-se que a origem do *M. mycoides* cluster está relacionada à domesticação de pequenos e grandes ruminantes e a consequente formação de rebanhos, com criações mistas, criando ambiente favorável para a disseminação e diversificação da população do patógeno. Fischer *et al.* (2012) demonstraram a ocorrência de uma alta diversidade genética com um significativo nível de recombinação em dois genes dentro do *Mmc* cluster, o que faz com que o patógeno altere seu comportamento.

Não foram identificados casos de mastite clínica nos animais por meio do exame físico da glândula mamária, nem sinais clínicos relacionados à micoplasmose. Apesar das mastites clínicas em caprinos serem pouco frequentes, a prevalência aceitável para forma subclínica varia de 13 a 20% (Anderson *et al.* 2004). Nesse estudo, a ocorrência de mastite subclínica mastite subclínica diagnosticada por meio do exame microbiológico foi de 21,5% (89/414) indicando que a infecção se encontra um pouco acima dos limites aceitáveis para espécie, e de 34,54% (143/414) para micoplasmose, sendo que o percentual de animais positivos por propriedade variou de 0 a 66,67% e 0 a 100%, para estas enfermidades, respectivamente. A prevalência de mastite subclínica observada no presente trabalho foi maior que a observada por Neves *et al.* (2010), Peixoto *et al.* (2010) e Melo (2012) nos estados da Bahia, Paraíba e Pernambuco, que foram de 11,49%, 17,9% e 12,46%, respectivamente, sendo semelhante ao observado por Cavalcante *et al.* (2013) na região de Salvador, Bahia, com 22,02% de

positividade. Entretanto, quando considerado o animal como unidade amostral, a prevalência diminui para micoplasmose 22,70% (47/207) e aumenta para mastite subclínica 31,40% (65/207). Com isso, observa-se que apesar das infecções pelos agentes convencionais da mastite subclínica serem em maior número localizadas, infecções por micoplasmas apresentam caráter sistêmico.

Outro resultado obtido foi que 98,88% (88/89) dos casos de mastite subclínica foram causados por um único agente etiológico. Esses resultados corroboram com Cavalcante *et al.* (2013) onde 93,8% das mastites subclínicas descritas, havia apenas um único microrganismo envolvido, que foi representado em 90,3% dos casos pelo *Staphylococcus* spp.

O isolamento de *Staphylococcus* spp. em 20,29% (84/414) das amostras com uma prevalência de 93,33% (84/90) entre os isolados da mastite subclínica corrobora com outros trabalhos que avaliaram a etiologia da infecção na glândula mamária caprina na região Nordeste do Brasil, com taxas de 81,9% a 100% (Neves *et al.* 2010; Peixoto *et al.* 2010; Melo, 2012). Esses agentes são considerados os mais frequentemente encontrados, em especial o *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN), considerado o principal agente causador (Mota *et al.* 2000, Schmidt *et al.* 2009) justificado pela sua presença na microbiota da pele e conjuntiva dos animais, particularmente no úbere de fêmeas leiteiras (Moroni *et al.* 2005), que acabam servindo de fonte de infecção em potencial no rebanho. A infecção pode ocorrer durante toda a lactação ou mesmo no período seco (Poutrel *et al.* 1997).

*Bacillus* spp. raramente estão associados às mastites caprinas. A prevalência de 0,97% (4/414) observada foi inferior à descrita em outras pesquisas. O microrganismo foi isolado por outros pesquisadores em casos de mastite subclínica em caprinos com frequência de 2% a 5,2%. Entretanto, o *Bacillus* spp. Gram negativos como os isolados neste trabalho apresentam maior importância que os Gram positivos nas mastites caprinas, ocasionando manifestações subclínicas com baixo impacto no perfil celular e incapacidade de produzir infecções persistentes de longa duração (Kostelić *et al.* 2009; Langoni *et al.* 2006; Bianchini *et al.* 2009; Pereira *et al.* 2016).

A CCS apesar de não possuir um padrão para caprinos representa uma forma valiosa de detecção da mastite subclínica no rebanho para estabelecer medidas de prevenção e controle. Contagens a partir de  $1 \times 10^6$  células/mL têm sido usadas como base para leite com mastite (Paes *et al.* 2003). O aumento da CCS influenciou diretamente na composição do leite caprino, proporcionando elevação dos percentuais de gordura, ST, proteína e caseína, com diminuição da lactose (Tabela 2). Para Pereira *et al.* (1999), as alterações na composição do leite associadas ao aumento da CCS levam a diminuição da lactose, ST e gordura. Para este

último, se a redução da produção de leite for mais acentuada que o decréscimo da produção de gordura, ocorrerá concentração, e a porcentagem de proteína será aumentada.

**TABELA 2** - Composição química média (g/100g), perfil celular ( $10^3$  céls/mL) e coeficiente de variação (%) do leite de cabras leiteiras em função das diferentes classes de unidades logarítmicas da contagem de células somáticas (CCS).

Variável	Contagem de células somáticas		
	≤ 750	750-1.000	≥ 1.000
Gordura	4,26(±)2,10 <sup>B</sup>	5,55(±)2,01 <sup>AB</sup>	5,66(±)2,35 <sup>A</sup>
Proteína	3,12(±)0,53 <sup>B</sup>	3,23(±)0,53 <sup>AB</sup>	3,41(±)0,89 <sup>A</sup>
Lactose	4,25(±)0,47 <sup>A</sup>	4,18(±)0,25 <sup>A</sup>	3,88(±)0,37 <sup>B</sup>
Sólidos totais	12,51(±)2,24 <sup>B</sup>	13,82(±)1,93 <sup>AB</sup>	13,78(±)2,49 <sup>A</sup>
ESD	8,24(±)0,64 <sup>A</sup>	8,26(±)0,58 <sup>A</sup>	8,12(±)0,84 <sup>A</sup>
Caseína	2,28(±)0,49 <sup>B</sup>	2,59(±)0,50 <sup>AB</sup>	2,76(±)0,81 <sup>A</sup>
CCS	267(±)187 <sup>C</sup>	891(±)62 <sup>B</sup>	2768(±)1373 <sup>A</sup>

Queiroga et al. (2007) avaliaram a influência dos períodos de lactação (35, 85 e 135 dias) nas características químicas e físicas do leite de cabras da raça Saanen e não observaram diferença significativa entre as fases. Da mesma forma, Gomes et al. (2004) analisaram a influência do estágio de lactação na composição do leite de cabras da mesma raça durante oito meses e notaram estabilidade nos percentuais de proteína durante todo o período. Com base nos dados obtidos, afirmar-se que a elevação da CCS interfere diretamente no teor de proteína do leite caprino causando sua elevação, corroborando com Pereira et al. (1999). Com isso, a diminuição nos teores de lactose, em função da alta CCS, pode ser reflexo de um efeito compensatório na glândula mamária com mastite, responsivo ao aumento da excreção de cloretos devido à alteração na permeabilidade das células epiteliais mamárias, como relatado por Kitchen et al. (1980). Os constituintes do leite caprino, de uma forma geral, apresentaram-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente (Brasil, 2000) (Tabela 3), não havendo diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre as glândulas mamárias. Mudanças no teor de lactose podem ocorrer devido à passagem da mesma para o sangue e devido à redução da capacidade de síntese pelo epitélio glandular, em consequência das lesões epiteliais causadas pela mastite (Zanela et al. 2006).

**TABELA 3** - Composição química média (g/100g) e coeficiente de variação (%) do leite, em função da glândula mamária, de cabras leiteiras dos estados da Paraíba e Pernambuco, de abril a setembro de

Variável	Glândula mamária	
	Direita	Esquerda
Gordura	4,88(±)2,36 <sup>A</sup>	4,69(±)2,10 <sup>A</sup>
Proteína	3,41(±)1,38 <sup>A</sup>	3,47(±)1,60 <sup>A</sup>
Lactose	3,98(±)0,65 <sup>A</sup>	4,01(±)0,59 <sup>A</sup>
Sólidos Totais	13,13(±)2,65 <sup>A</sup>	13,03(±)2,63 <sup>A</sup>
ESD	8,26(±)1,27 <sup>A</sup>	8,34(±)1,53 <sup>A</sup>
Caseína	2,75(±)1,24 <sup>A</sup>	2,80(±)1,45 <sup>A</sup>

De todos os componentes do leite caprino avaliados para animais hígdos (Tabela 4), apenas a lactose, que embora se aproxime dos valores de referência ( $4,08 \pm 0,56$ ), não atende ao mínimo exigido pela Instrução Normativa nº 37, que é de 4,3% (Brasil, 2000). A lactose é o componente do leite que apresenta menor variação devido à relação entre sua síntese e a quantidade de água drenada para o leite, pois atua como o principal componente osmótico. A porcentagem encontrada no presente estudo encontra-se na faixa descrita por Moraes (2017) de 1,80 a 6,05%, em estudo realizado nos estados da Paraíba e Pernambuco, estando próximo da média de 3,97%, citada por Vilanova et al. (2008) em trabalho realizado com cabras da raça Saanen sem mastite subclínica.

Os percentuais de gordura, proteína, ST, ESD e CCS (Tabela 4) foram superiores ao observado por Vilanova *et al.* (2008) em estudo realizado com cabras da raça Saanen hígdas, obtiveram valores de 2,76%, 2,67%, 10,26%, 7,5% e  $645 \times 10^3$  células/mL, respectivamente. O limiar médio de CCS para amostras negativas no isolamento foi de  $1,2 \times 10^6$  células/mL, semelhante ao encontrado por Silva *et al.* (2001) que compararam a CCS e o isolamento microbiológico, estabelecendo o limite de  $1,12 \times 10^6$  células/mL como valor máximo de células admissível para o leite caprino.

**TABELA 4** - Composição química média (g/100g), perfil celular ( $10^3$  céls/mL) e coeficiente de variação (%) do leite de cabras leiteiras em função da infecção bacteriológica.

Variável	Cultivo bacteriano			
	Negativo	Mastite Subclínica	Micoplasmose	Micoplasmose+ M. Subclínica
Gordura	5,17 ± 2,60 <sup>A</sup>	4,81 ± 2,14 <sup>A</sup>	4,54 ± 1,54 <sup>A</sup>	4,36 ± 2,15 <sup>A</sup>
Proteína	3,30 ± 0,69 <sup>A</sup>	3,34 ± 1,10 <sup>A</sup>	3,14 ± 0,50 <sup>AB</sup>	2,99 ± 0,35 <sup>B</sup>
Lactose	4,08 ± 0,56 <sup>A</sup>	4,03 ± 0,37 <sup>A</sup>	4,16 ± 0,30 <sup>A</sup>	4,06 ± 0,27 <sup>A</sup>
ST	13,41 ± 2,71 <sup>A</sup>	13,03 ± 2,28 <sup>AB</sup>	12,72 ± 1,63 <sup>B</sup>	12,25 ± 2,22 <sup>B</sup>
ESD	8,24 ± 0,74 <sup>A</sup>	8,22 ± 0,93 <sup>AB</sup>	8,17 ± 0,58 <sup>AB</sup>	7,89 ± 0,46 <sup>B</sup>
Caseína	2,65 ± 0,63 <sup>A</sup>	2,69 ± 1,00 <sup>A</sup>	2,51 ± 0,46 <sup>AB</sup>	2,37 ± 0,33 <sup>B</sup>
CCS	1196 ± 1523 <sup>B</sup>	1843 ± 1432 <sup>A</sup>	1260 ± 1619 <sup>B</sup>	1475 ± 1137 <sup>AB</sup>

O estado bacteriológico (infectado e não infectado) não foi significativo ( $p > 0,05$ ) para os percentuais de gordura e lactose, apesar do declínio observado no percentual de gordura em animais infectados. No entanto, na comparação pareada entre as metades mamárias hígdas e com mastite subclínica de um mesmo animal observou-se diferença estatística para os teores de lactose. Corroborando com Leitner et al. (2004<sup>ab</sup>) os quais relataram que o percentual de lactose foi maior nas glândulas mamárias não infectadas do que nas infectadas. No entanto, as infecções por micoplasmas não influenciaram na composição química do leite caprino.

Os percentuais de proteína não diferiram estatisticamente entre as glândulas mamárias hígdas, com mastite subclínica e micoplasmose, mas foram significativas ( $p < 0,05$ ) quando houve coinfeção, com diminuição de seu percentual, diferindo do relatado por Leitner et al. (2004<sup>b</sup>), que observaram aumento entre as metades mamárias com mastite subclínica. O percentual de ST diminuiu na presença de infecção, sendo observado diferença estatística ( $p < 0,05$ ) quando comparado as amostras hígdas, em relação à infecção por micoplasmose e na coinfeção. As amostras com coinfeção apresentaram diferença estatística para ESD, quando comparado com as amostras negativas. O ESD compreende basicamente o teor de proteína bruta, lactose e minerais do leite. Para Zanela et al. (2006), sua relação com o teor de lactose parece ser bastante próxima, sendo assim, a diminuição poderia estar correlacionada com a queda de lactose. Por outro lado, foi observado que a caseína proporcionou maior impacto no percentual de ESD por constituir cerca de 71% das proteínas do leite caprino (Silva et al. 2015).

De forma geral, quando ocorre coinfeção entre os agentes comumente isolados na mastite subclínica e *Mycoplasma* spp., observam-se alterações na composição química do

leite caprino, com redução nos percentuais de ST, proteína, ESD e caseína. Esta última diminuiu devido ao aumento da atividade proteolítica como relatado por Schaar e Funke (1986). A infecção da glândula mamária por agentes convencionais não influenciou no percentual médio de caseína, no entanto, quando associada à micoplasmose apresentou decréscimo. Dados semelhantes foram relatados por Leitner et al. (2004<sup>a</sup>), em que na espécie caprina o percentual de caseína nas glândulas com e sem mastite subclínica não diferiram, no entanto, observaram aumento nas concentrações de proteína do soro de leite e de albumina nas glândulas infectadas. De acordo com a metodologia empregada na pesquisa, tendo como parâmetros as amostras negativas no isolamento observou-se que a mastite subclínica não influenciou na composição química do leite caprino, impactando diretamente na CCS. As infecções por *Mycoplasma* spp. influenciaram negativamente no percentual de ST mas não no perfil celular. No entanto, quando correlacionamos às glândulas mamárias infectadas e híginas de um mesmo animal, observa-se apenas diminuição no percentual de lactose nas infecções por mastite subclínica. Na ocorrência de coinfeção observa-se sinergismo entre os agentes convencionais da mastite subclínica e micoplasmose, acarretando a diminuição significativa dos percentuais de ST, ESD, caseína e proteína, mas não influenciaram na CCS, não diferindo estatisticamente entre as glândulas híginas e infectadas ( $p < 0,05$ ). Ao se avaliar as duas doenças simultaneamente, considerando cada animal como unidade amostral, contendo animais saudáveis, com mastite, com micoplasmose e com coinfeção, observa-se que nesse caso as infecções por *Mycoplasma* spp. apresentaram maior impacto na composição química do leite caprino, acarretando diminuição significativa para os percentuais de gordura, caseína, proteína e ST, em comparação as demais.

## CONCLUSÃO

A mastite subclínica influenciou no percentual de lactose e na contagem de células somáticas no leite de cabras, representando uma ferramenta valiosa para monitoramento de infecções no úbere de cabras. Entretanto, observa-se sinergismo entre os agentes convencionais da mastite subclínica e *Mycoplasma* spp. provocando diminuição nos percentuais de proteína, sólidos totais, extrato seco desengordurado e caseína, evidenciando maior impacto econômico nas infecções mistas ocasionadas por esses agentes.

**Agradecimentos.**- A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado, e a todos os produtores que nos receberam gentilmente em suas propriedades disponibilizando seus animais para pesquisa.



**Declaração de conflito de interesse.-** Não há conflito de interesses entre os autores.

## REFERÊNCIAS

- Alcântara M.D.B., Campos A.C., Melo M.A., Pereira Filho J.M., Nascimento E.R., Farias, A.A., Sousa D.R.M. & Azevedo E.O. 2013. Resposta imunológica em caprinos vacinados contra agalaxia contagiosa. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(5):561-564. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000500001>>
- Almeida J.F., Nascimento E.R., Pereira V.L.A., Barreto M.L., Campos C.A.M. & Azevedo E.O. 2007. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) no diagnóstico de micoplasmose caprina a partir de cultivos estocados em glicerina. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 29:54-57.
- Anderson D.E., Hull B.L. & Pugh D.G. 2004. Enfermidades da glândula mamária, p.379-399. In: Pugh D.G. *Clínica de ovinos e caprinos*. Roca, São Paulo.
- Azevedo E.O., Alcântara M.D.B., Nascimento E.R., Tabosa I.M., Barreto M.L., Almeida J.F., Araújo M.D., Rodrigues A.R.O., Riet-Correa F. & Castro R.S. 2006. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37(4):576-581. <<https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000400033>>
- Bandeira D.A., Castro R.S., Azevedo E.O., Nascimento E.R., Melo L.S.S. & Melo C.B. 2008. Infection by *Mycoplasma agalactiae* in dairy goat herds in the microregions of Cariri in Paraíba State, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 60(5):1255-1258. <<https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000500031>>
- Brasil. 2000. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. Instrução Normativa nº 37 de 31 de outubro de 2000.
- Brasil. 2017. Pesquisa da pecuária municipal. Rio de Janeiro: IBGE. Acessado em:12 fev 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>.
- Cavalcante M.P., Alzamora Filho, F. & Almeida M.G.Á.R. 2013. Bactérias envolvidas nas mastites subclínicas de cabra da região de Salvador, Bahia. *Arquivos do Instituto Biológico*. 80(1):19-26. <<https://doi.org/10.1590/S1808-16572013000100004>>
- Contreras A., Corrales J.C., Sierra D., Marco J. 1995. Prevalence and etiology of nonclinical intramammary infection in Murciano-Granadina goats. *Small Ruminant Research*. 17(1):71-78. <[https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00651-Z](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00651-Z)>
- Contreras A., Miranda R.E., Sánchez A., De La Fe C., Sierra D., Luengo C. & Corrales J.C. 2008. Presence of *Mycoplasma* species and somatic cell counts in bulk-tank goat milk. *Small Ruminant Research*. 75(2-3):247-251. <<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.11.007>>
- Corrales, J.C., Sánchez, A., Luengo, C., Poveda J.B. & Contreras A. 2004. Effect of clinical contagious agalactia on the bulk tank milk somatic cell count in Murciano-Granadina goat herds. *Journal of Dairy Science*. 87(10):3165-3171. <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73451-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73451-7)>

De La Fe C., Assunção P., Antunes T., Rosales R.S. & Poveda J.B. 2005. Microbiological survey for *Mycoplasma* spp. in a contagious agalactia endemic area. *Veterinary Journal*. 170(2):257-259. <<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.05.002>>

Egwu G.O., Ameh J.A., Aliyu M.M. & Mohammed F.D. 1999. Caprine mycoplasmal mastitis in Nigeria. *Veterinarski Arhiv*. 69(5):241-250. <[https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(00\)00156-5](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00156-5)>

Ferreira M.C.C. & Queiroga R.C.R.E. 2003. Composição do leite de cabras puras no Curimataú paraibano durante o período de lactação. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 58(330):21-26. <<https://doi.org/10.1590/S0101-20611998000200004>>

Fischer A., Shapiro B., Muriuki C., Heller M., Schnee C., Bongcam-Rudloff E., Vilei E.M., Frey J. & Jores J. 2012. The origin of the '*Mycoplasma mycoides* cluster' coincides with domestication of ruminants. *PLoS One*. 7(4). <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036150>>

Gomes V., Paiva A.M.M., Libera D., Madureira K.M. & Araújo W.P. 2004. Influência do estágio de lactação na composição do leite de cabras (*Capra hircus*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 41(5):340-342. <<https://doi.org/10.1590/S1413-95962004000500008>>

Greco G., Corrente M., Martella V., Pratelli A. & Buonavoglia D. 2001. A multiplex-PCR for the diagnosis of contagious agalactia of sheep and goats. *Molecular and Cellular Probes*. 15(1):21-25. <<https://doi.org/10.1006/mcpr.2000.0337>>

Khezri M., Pourbakhsh S.A., Ashtari A., Rokhzad B. & Khanbabai H. 2012. Isolation and prevalence of *Mycoplasma agalactiae* in sheep in Kurdistan in the West of Iran. *Veterinary World*. 5(12):727-731. <<https://doi.org/10.5455/vetworld.2012.727-731>>

Kitchen B.J., Middleton G., Durward I., Andrews R.J. & Salmon M.C. 1980. Mastitis diagnostic tests to estimate mammary gland epithelial cell damage. *Journal of Dairy Science*. 63(6):978-83. <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)83035-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83035-9)>

Kostelić A., Cergolj M., Tariba B. & Rupiće C. 2009. Prevalence and a etiology of subclinical mastitis in goat. *Italian Journal of Animal Science*. 8(3):134-136. <<https://doi.org/10.4081/ijas.2009.s3.134>>

Langoni H., Domingues P.F. & Baldini S. 2006. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 13(1):51-54. <<http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.266>>

Leitner G., Merin U. & Silanikove N. 2004. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. *Journal of Dairy Research*. 87(6):1719-1726. <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73325-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73325-1)>

Leitner G., Merin U., Silanikove N., Ezra E., Chaffer M., Gollop N., Winkler M., Glickman A. & Saran A. 2004. Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts, NAGase activity and gross composition of goats' milk. *Journal of Dairy Research*. 71(3):311-315. <<https://doi.org/10.1017/S0022029904000305>>

Machado P.F., Pereira A.R. & Sarries G.A. 2000. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 29(6):1883-1886. <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000600038>>

Melo D.B. 2012. Mastite subclínica em cabras no semiárido paraibano. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Campina Grande. Patos. 59p.

Moraes A.C.A. 2017. Estudo microbiológico e composição físico-química do leite de cabra. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 72p.

Moroni P., Pisoni G., Antonini M., Ruffo G., Carli S., Varisco G. & Boettcher P. 2005. Subclinical mastitis and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus caprae* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from two Italian goat herds. *Journal of Dairy Science*. 88(5):1694-1704. <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72841-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72841-1)>

Mota R.A., Castro F.J.C., Silva L.B.G. & Oliveira A.A.F. 2000. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. *A Hora Veterinária*. 19(114):26-29.

Nascimento S.S., Alves J.J.A. Um alerta ambiental do grau da desertificação no Estado da Paraíba. Encontro internacional de geografia: tradições e perspectivas. Universidade de São Paulo-USP, 2008.

Neves P.B., Medeiros E.S., Sá V.V., Camboim E.K.A., Garino Jr F., Mota R.A. & Azevedo S.S. 2010. Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(5):379-384. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000500001>>

Paes P.R.O., Lopes S.T.A., Lopes R.S., Kohayagawa A., Takahira R.K. & Langoni H. 2003. Efeitos da administração de vitamina E na infecção mamária e na contagem de células somáticas de cabras primíparas desafiadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 55(1):15-20. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352003000100003>>

Peixoto R.M., França C.A., Souza Jr, A.F. Veschi J.L.A. & Costa M.M. 2010. Etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos da mastite em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(9):735-740. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000900005>>

Pereira A.R., Prada e Silva L.F., Molon L.K., MACHADO P.F. & BARANCELLI G. 1999. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I: gordura e proteína. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 36(3):121-124. <<https://doi.org/10.1590/s1413-95961999000300003>>

Pirisi A., Lauret A. & Dobeuf J.P. 2007. Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. *Small Ruminant Research*. 68(1-2):167-178. <<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.009>>

Pooladgar A.R., Looni R., Ghaemmaghani S.H., Pourbakhsh A., Ashtari A. & Ali Shirudi A. 2014. Isolation and identification of *Mycoplasma agalactiae* by culture and polymerase chain reaction (PCR) from affected sheep to contagious agalactia of Khuzestan province, Iran. Archives of Razi Institute. 70(1):21-27. <<https://doi.org/10.7508/ari.2015.01.004>>

Poutrel B., De Crémoux R., Ducelliez M. & Verneau D. 1997. Control of intramammary infections in goats: impact on somatic cell counts. Journal of Animal Science. 75(2):566-570. <<https://doi.org/10.2527/1997.752566x>>

Prada e Silva L.F., Pereira A.R., Machado P.F. & Sarries G.A. 2000. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II: lactose e sólidos totais. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 37(4):330-333. <<https://doi.org/10.1590/S1413-95962000000400014>>

Queiroga R.C.R.E., Costa R.G., Biscontini T.M.B., Medeiros A.N., Madruga M.S. & Schuler A.R.P. 2007. Influência do manejo do rebanho, das condições higiênicas da ordenha e da fase de lactação na composição química do leite de cabras Saanen. Revista Brasileira de Zootecnia. 36(2):430-437. <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000200021>>

SAS. SAS Software. Cary, North Carolina: SAS Institute Inc., 2007.

Schaar J. & Funke H. 1986. Effect of subclinical mastitis on milk plasminogen and plasmin compared with that on sodium, antitrypsin and N-acetyl-  $\beta$  - D -glucosaminidase. Journal of Dairy Research. 53(4):515-528, 1986. <<https://doi.org/10.1017/S0022029900033045>>

Schmidt V., Pinto A.T., Schneider R.N., Silva F.F.p. & Mello F.A. 2009. Caracterização da mastite subclínica em caprinos produzidos em sistema orgânico no Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira. 29(9):774-778. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009000900015>>

Silva E.R., Araújo A.M., ALVES F.S.F., Pinheiro R.R. & Saukas T.N. 2001. Associação entre o califórnia mastitis test e a contagem de células somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 38(1):46-48. <<https://doi.org/10.1590/S1413-95962001000100010>>

Vilanova M.S., Gonçalves M., Osório M.T.M., Esteves R. & Schmidt V. 2008. Aspectos sanitários do úbere e composição química do leite de cabras Saanen. Acta Scientiae Veterinariae. 36(3):235-240. <<https://doi.org/10.22456/1679-9216.17291>>

Zanela M.B., Fischer V., Ribeiro M.E.R., Stumpf Junior W., Zanela C., Marques L.T. & Martins P.R.G. 2006. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 41(1):153-159. <<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000100021>>

Zeng S.S. 1996. Comparison of goat milk standards with cow milk standards for analyses of somatic cell count, fat and protein in goat milk. Small Ruminant Research. 21(3):221-225. <[https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00838-1](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00838-1)>

Zeng S.S., Escobar E.N., Hart S.P., Hinckley L., Baulthaus M., Robinson G.T & Jahnke G. 1999. Comparative study of the effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk. *Small Ruminant Research*. 31(2):103-107. <[https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(98\)00133-3](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(98)00133-3)>

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A agalaxia contagiosa tem ocasionado graves impactos socioeconômicos na região em estudo devido as perdas produtivas com animais enfermos e custos com tratamento, baseado no uso prolongado de antimicrobianos até o momento ineficaz, favorecendo a disseminação da doença para outros rebanhos através de animais portadores assintomáticos.

Relata-se infecções mistas nos casos de micoplasmose no Brasil, confirmando o envolvimento de outros agentes nos casos de agalaxia contagiosa, no entanto, o *Mycoplasma agalactiae* continua sendo o principal agente, sendo o único isolado em amostras de leite caprino nas infecções subclínicas e clínicas descritas nesse trabalho. Nas infecções subclínicas por *Mycoplasma* spp., observa-se pouca influência nos componentes do leite caprino, entretanto, quando em associação com os agentes convencionais para mastite subclínica apresentaram sinergismo, com efeito deteriorante. A caracterização dos agentes etiológicos na glândula mamária sobre a composição do leite caprino fornece informações preciosas para todos os envolvidos na cadeia produtiva da caprinocultura leiteira.

A utilização da contagem de células somáticas mostrou-se como uma ferramenta importante no monitoramento da saúde da glândula mamária, através do acompanhamento da dinâmica entre os agentes infecciosos e o comportamento da CCS, com isso foi possível definir o limite de  $1,2 \times 10^6$  céls/mL, como o valor limite de células fisiologicamente admissível para o leite caprino na região em estudo.

Salientamos a necessidade de estudos posteriores mais amplos visando determinar a etiologia da agalaxia contagiosa, uma vez que as infecções nem sempre resultaram na forma clínica, dependendo da espécie envolvida, grau de imunidade do rebanho e do indivíduo afetado. Outras micoplasmoses devem ser investigadas a fim de que seu diagnóstico sirva para elaboração de medidas sanitárias eficazes, bem como, na elaboração de testes diagnósticos rápidos acessíveis ao produtor rural, uma vez que os laboratórios de micoplasmologia são escassos e muitas vezes inacessíveis ao homem do campo.

Protocolos sanitárias precisam ser implantados pelos órgãos sanitários oficiais para micoplasmoses em pequenos ruminantes, buscando seu controle. Além disso, pesquisas posteriores devem ser epidemiologicamente embasadas, buscando reduzir a heterogeneidade entre os estudos.

