

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

**FATORES ASSOCIADOS À SEGURIDADE E À QUALIDADE
TECNOLÓGICA DO LEITE BOVINO E CAPRINO NO CARIRI
PARAIBANO**

WELLINGTON DIAS LOPES JUNIOR

AREIA/PB
FEVEREIRO/2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

**FATORES ASSOCIADOS À SEGURIDADE E À QUALIDADE
TECNOLÓGICA DO LEITE BOVINO E CAPRINO NO CARIRI
PARAIBANO**

WELLINGTON DIAS LOPES JUNIOR

-Zootecnista-

AREIA/PB
FEVEREIRO/2013

WELLINGTON DIAS LOPES JUNIOR

**FATORES ASSOCIADOS À SEGURIDADE E À QUALIDADE
TECNOLÓGICA DO LEITE BOVINO E CAPRINO NO CARIRI
PARAIBANO**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira – Orientador principal

Profa. Dra. Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga

Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto

AREIA/PB

Fevereiro/2013

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

L864f *Lopes Júnior, Wellington Dias.*

Fatores associados à segurança e à qualidade tecnológica do leite bovino e caprino no cariri paraibano / Wellington Dias Lopes Júnior. - Areia: UFPB/CCA, 2013.

111 f. : il.

Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2013.

Bibliografia.

Orientador: Celso José Bruno de Oliveira.

1. Leite bovino – Qualidade tecnológica 2. Leite caprino – Qualidade tecnológica 3. Produção leiteira – Cariri paraibano I. Oliveira, Celso José Bruno de (Orientador) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 637.12(043.2)

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA
PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

TÍTULO: “Fatores Associados à Seguridade e à Qualidade Tecnológica do Leite Bovino e Caprino no Cariri Paraibano”

AUTOR: WELLINGTON DIAS LOPES JUNIOR

ORIENTADOR: Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira

JULGAMENTO

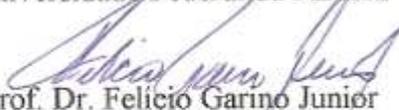
CONCEITO:

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira
Presidente
Universidade Federal da Paraíba


Profa. Dra. Patricia Emilia Naves Givisiez
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba


Profa. Dra. Suzana Aparecida Costa de Araújo
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dr. Felício Garino Júnior
Examinador
Universidade Federal de Campina Grande


Prof. Dr. Danilo Tancler Stipp
Examinador
Universidade Federal da Paraíba

Areia, 15 de fevereiro de 2013

DADOS BIOGRÁFICOS DO AUTOR

WELLINGTON DIAS LOPES JUNIOR – Filho de Wellington Dias Lopes e Ednilza Horácio Lopes nasceu no dia 17 de agosto de 1983 na cidade de Natal, no Estado do Rio Grande do Norte. Prestou o vestibular para o Curso de Zootecnia na Universidade Federal do Rio Grande do Norte em 2002, onde se formou em julho de 2006. No ano seguinte ingressou no Curso de Mestrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba na área de concentração Produção Animal, trabalhando com qualidade do leite bovino, recebendo o título de Mestre em Zootecnia em fevereiro de 2009. No mesmo ano ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia desta universidade em Areia, Paraíba, onde defendeu sua Tese em fevereiro de 2013.

A DEUS

Aos meus pais, Wellington Dias Lopes e Ednilza Horácio Lopes.

Irmãos, Wilde Horácio Lopes e Rayssa Horácio Lopes.

Esposa, Gabriela Mafra Dantas Lopes.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, por me conduzir pelos melhores caminhos e dar-me força para sempre seguir em frente.

À Universidade Federal da Paraíba e ao Centro de Ciências Agrárias – CCA-UFPB, pela grande contribuição para a minha formação profissional.

Aos meus queridos pais, Wellington Dias Lopes e Ednilza Horácio Lopes, por todo o amor, forma de educação e incentivo incondicional que sempre me ofertaram.

Aos meus irmãos Wilde Horácio Lopes e Rayssa Horácio Lopes pela amizade, paciência, alegria, confiança e amor.

À minha esposa Gabriela Mafra Dantas Lopes, pelo seu amor, companheirismo, paciência, apoio nos momentos difíceis e pela intensa participação na elaboração deste trabalho.

Aos meus avós paternos e padrinhos Severino Ramos Lopes e Elvira Maria de Jesus Lopes (*in memoriam*) pelo incentivo, apoio incondicional e carinho a mim ofertados em todos os momentos da nossa convivência.

Aos meus sogros Gutemberg Fonseca Dantas e Evanilda Mafra Dantas, pela serenidade, confiança e amizade.

Ao Prof. Dr. Celso, pela orientação acadêmica, ensinamentos enriquecedores, apoio, confiança e disponibilidade ao longo do curso.

À Profa. Dra. Rita, pelo pronto atendimento sempre que a procurei, pela humildade, serenidade e, principalmente, pelos bons modos que trata todos que a rodeiam.

À Profa. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez, pelos valiosos ensinamentos, companheirismo e disponibilidade.

Ao Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto, por todos os ensinamentos, pelo seu companheirismo, amizade e exemplo de profissional da Zootecnia.

Ao Prof. Dr. Walter Esfrain Pereira, pela imprescindível contribuição nos ensinamentos e análises estatísticas, pelo exemplo de dedicação à academia.

Aos Professores Suzana Aparecida Costa de Araújo, Felício Garino Júnior, Danilo Tancler Stipp, pela participação no Exame de Qualificação e Defesa da Tese e pelas valiosas contribuições para a melhoria deste trabalho.

Aos demais professores e do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba.

Aos colegas e colaboradores do Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal, Candice, Camila, Angélica, Juliana e Cleidson que contribuíram intensamente na condução deste trabalho.

Aos produtores de leite do Cariri Paraibano, que abriram as porteiras das suas propriedades e nos forneceram as informações e a matéria prima, o leite, para concretização deste trabalho.

A Marcone, Leuzene e Severino pela hospedagem, amizade, descontração e compromisso.

Aos amigos Ebson Pereira, Henrique Parente, Marcelo Ferreira, Renata Pereira, Tobias Mariz, Josimar Torres, Daniel Farias, Francisca Geovânia, Ana Paula, Renata Marinho, Paulinha, Élcio Santos, José Fábio, Jalceyr Pessoa, Rinaldo José que proporcionaram muita alegria durante todo esse tempo de convivência.

Aos funcionários do PPGZ/CCA, Maria das Graças Medeiros, Jacilene, Carmem e Damião, pela atenção e ajuda que me foram prestadas.

A todos os colegas do Programa de Pós Graduação em Zootecnia que, direta ou indiretamente, colaboraram para realização deste trabalho.

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS

SUMÁRIO

	Página
Lista de Tabelas.....	Xii
Lista de Figuras.....	Xv
Resumo Geral.....	Xvi
General Abstract.....	Xviii
Considerações Iniciais.....	01
Capítulo I - Identificação de Fatores Associados à Qualidade do Leite Bovino no Cariri Paraibano para sua Adequação à Instrução Normativa 62.....	03
Resumo.....	04
Abstract.....	05
Introdução.....	06
Material e Métodos.....	07
Resultados e Discussão.....	09
Considerações Finais.....	25
Referências Bibliográficas.....	26
Capitulo II - Fatores Associados a Indicadores Microbiológicos e Celularidade no Leite Caprino.....	30
Resumo.....	31
Abstract.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	34
Resultados e Discussão.....	37
Considerações Finais.....	51
Referências Bibliográficas.....	52

Capítulo III - Diagnóstico, Etiologia e Resistência Antimicrobiana das Infecções Intramamárias em Cabras leiteiras.....	56
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	60
Resultados e Discussão.....	62
Considerações Finais.....	73
Referências Bibliográficas.....	74
 Apêndice.....	 77

LISTA DE TABELAS

Capítulo I - Identificação de Fatores Associados à Qualidade do Leite Bovino no Cariri Paraibano para sua Adequação à Instrução Normativa 62

Tabela 1 - Estatística descritiva para as variáveis avaliadas relacionadas ao perfil dos proprietários, caracterização das propriedades e dos rebanhos em sistemas de produção de leite bovino no Cariri Oriental Paraibano.....	12
Tabela 2 - Estatística descritiva para as variáveis avaliadas relacionadas ao manejo nutricional e sanitário em sistemas de produção de leite bovino no Cariri Oriental Paraibano.....	13
Tabela 3 - Estatística descritiva para as variáveis avaliadas relacionadas aos procedimentos higiênicos de ordenha em sistemas de produção de leite bovino no Cariri Oriental Paraibano.....	14
Tabela 4 - Distribuição das unidades produtoras de leite bovino cru refrigerado no Cariri Oriental Paraibano em função de diferentes valores para contagem padrão em placas (CPP) de microrganismos mesófilos aeróbios.....	15
Tabela 5 - Distribuição das unidades produtoras de leite bovino cru refrigerado no Cariri Oriental Paraibano em função de diferentes valores para contagem de células somáticas.....	17
Tabela 6 - Composição físicoquímica de 81 amostras de leite bovino cru refrigerado, colhidas em propriedades localizadas no Cariri Oriental Paraibano em relação aos valores de referência estabelecidos pela IN 62.....	18
Tabela 7 - Variáveis associadas à qualidade do leite bovino produzido no Cariri Oriental Paraibano.....	21

Capítulo II - Fatores Associados a Indicadores Microbiológicos e Celularidade no Leite Caprino

Tabela 1 - Distribuição das propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano em função dos níveis de contaminação do leite <i>in natura</i> por microrganismos mesófilos aeróbios (UFC/mL).....	37
Tabela 2 - Distribuição das propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano em função dos níveis de contaminação do leite <i>in natura</i> por coliformes a 35 °C (UFC/mL).....	39
Tabela 3 - Distribuição das propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano em função dos níveis de contaminação do leite <i>in natura</i> por <i>Staphylococcus spp.</i> (UFC/mL).....	39
Tabela 4 - Distribuição das propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano em função dos intervalos de contagem de células somáticas do leite <i>in natura</i> . (cél./mL).....	42
Tabela 5 - Contagem diferencial dos tipos celulares avaliados no leite caprino produzido em propriedades do Cariri Paraibano.....	43
Tabela 6 - Associações incondicionais ($P < 0,2$) entre as variáveis independentes (caracterização e manejo das propriedades) e a contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios em 160 propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano.....	46
Tabela 7 - Associações incondicionais ($P < 0,2$) entre as variáveis independentes (caracterização e manejo das propriedades) e a contagem de células somáticas em 126 propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano.....	47
Tabela 8 - Modelo final de regressão logística para variáveis associadas à contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios (n=160) e contagem de células somáticas (n=126) no leite caprino produzido em propriedades do Cariri Paraibano.....	49

**Capítulo III - Diagnóstico, Etiologia e Resistência Antimicrobiana das Infecções
Intramamárias em Cabras Leiteiras**

Tabela 1 - Resistência antimicrobiana <i>in vitro</i> de <i>Staphylococcus spp.</i> (n=47) isolados de casos de mastite subclínica em rebanhos caprinos do Cariri Paraibano.....	67
Tabela 2 - Percentuais de múltipla resistência <i>in vitro</i> aos antimicrobianos e fenótipos de resistência de <i>Staphylococcus spp.</i> (n=47) isolados de casos de mastite subclínica em rebanhos caprinos do Cariri Paraibano.....	69
Tabela 3 - Concentração inibitória mínima de <i>Staphylococcus</i> isolados de casos de mastite subclínica em rebanhos caprinos do Cariri Paraibano.....	72

LISTA DE FIGURAS**Capítulo III - Diagnóstico, Etiologia e Resistência Antimicrobiana das Infecções
Intramamárias em Cabras Leiteiras**

- Figura 1 - Percentuais de isolamento de microrganismos associados a casos de mastite subclínica em 31 rebanhos caprinos do Cariri Paraibano (n=53)..... 64
- Figura 2 - Percentuais de *Staphylococcus* coagulase negativos (n=34), em relação aos *Staphylococcus* totais (n=53), isolados de casos de mastite subclínica em 31 rebanhos caprinos do Cariri Paraibano..... 66

FATORES ASSOCIADOS À SEGURIDADE E À QUALIDADE TECNOLÓGICA DO LEITE BOVINO E CAPRINO NO CARIRI PARAIBANO

RESUMO GERAL

Foram desenvolvidos três estudos com o objetivo de gerar conhecimentos que contribuíssem no avanço dos arranjos produtivos da bovinocultura e da caprinocultura leiteiras nos Cariris Oriental e Ocidental Paraibanos a partir de conhecimentos e tecnologias aplicadas à realidade local. No primeiro estudo, que tratou da qualidade do leite bovino, verificou-se as perspectivas de atendimento aos requisitos de qualidade exigidos pela Instrução Normativa 62 (IN 62) e os fatores de risco influentes na qualidade do leite. Para isto, foram realizadas colheitas e aplicados questionários em 81 unidades de produção de leite nos municípios de Caturité, Boqueirão, Barra de Santana e Queimadas. Relativamente à contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios (CPP) foi observado que 67% das propriedades adequavam-se às recomendações finais da IN 62. Os resultados de contagem de células somáticas (CCS) revelaram que apenas 4,9% das propriedades estavam em desacordo com a IN 62. Os valores médios observados para os parâmetros físicoquímicos de todas as amostras atendem aos requisitos da legislação. No entanto, individualmente, algumas propriedades apresentaram valores em desacordo aos limites exigidos (33% gordura, 4% para proteínas, 41% para extrato seco desengordurado, 25% para acidez). Os fatores de risco relacionados ao aumento da CPP foram ausência de assistência técnica e uso de utensílios inadequados na ordenha; relacionados à CCS, foram mais de dez animais em lactação e uso de toalhas descartáveis na secagem dos tetos. Para o teor de gordura, o fator de risco para sua redução foi a estação seca; para proteína foi o tempo até o resfriamento e, para acidez, foi a não realização da lavagem dos tetos. No segundo estudo, realizou-se uma avaliação semelhante à do primeiro, entretanto, em 160 unidades de produção de leite caprino localizadas nos municípios de Monteiro, Sumé, São Sebastião do Umbuzeiro e Cabaceiras. A CPP média observada foi de $5,1 \times 10^6$ UFC/mL. A contagem de coliformes a 35 °C apresentou valor médio de $6,7 \times 10^5$ UFC/mL. Para *E. coli* foi de $8,8 \times 10$ UFC/mL. Os valores de contagem para *Staphylococcus spp.* tiveram média de $1,2 \times 10^6$ UFC/mL. Detectou-se a presença de

Staphylococcus aureus no leite de 5,6% das propriedades. No leite de 1,3% das propriedades isolou-se *Salmonella enterica*. A CCS média foi $2,2 \times 10^6$ células/mL. Os valores relativos de neutrófilos, leucócitos mononucleares e células descamativas foram 56,9, 40,7 e 2,4%, respectivamente. Os fatores de risco para CPP foram: ausência do pré-dipping, não eliminação dos primeiros jatos de leite e a existência de casos de mastite. Para CCS foram: tempo na atividade maior que sete anos, utilização de água de açudes, produção total de leite da propriedade inferior a 25 kg/leite/dia, duração de lactação maior que 210 dias, secagem das cabras por previsão do parto e não eliminação dos primeiros jatos de leite. O terceiro estudo, também realizado em unidades de produção leite caprino, avaliou a mastite caprina e verificou a eficácia da CCS e do *California Mastitis Test* (CMT) como ferramentas de diagnóstico indireto da enfermidade. A prevalência da mastite clínica foi de 0,7%. A avaliação da mastite subclínica pelo CMT revelou 25% de positividade ao teste. A análise de concordância entre CMT e isolamento microbiológico revelou pobres concordâncias, com valores de 28 e 21% para os escores $\geq 1+$ e $\geq 2+$, respectivamente, e índice *Kappa* de 0,20. A CCS variou de $7,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^7$, com média de $1,4 \times 10^6$ cel/mL. A análise de concordância entre CCS e isolamento microbiológico relevou valores de 22 e 16% de concordância, com índice *Kappa* de 0,17 e 0,14 para CCS ≥ 1 e 1,5 milhão de cel/mL, respectivamente. Mediante isolamento microbiológico, 14,8 % dos animais e 19,3% dos meios mamários foram classificados como mastíticos. Os microrganismos mais prevalentes foram os *Staphylococcus* coagulase negativos (71,7%), principalmente *S. epidermidis* (34%). Os maiores índices de resistência observados pelo método de disco-difusão foram aos antimicrobianos penicilina (77%), ampicilina (75%) e tetraciclina (34%). O método de microdiluição em placas confirmou os resultados obtidos pelo método de disco-difusão, no entanto, mostrou-se mais eficaz na detecção de resistência para alguns antimicrobianos.

Palavras-chave: bovinocultura, caprinocultura, fatores de risco, mastite, produção leiteira.

STUDY OF QUALITY OF BOVINE AND GOATS MILK PRODUCED IN CARIRI OF PARAÍBA

GENERAL ABSTRACT

Three studies were developed with the goal of generating knowledge to contribute in the advancement of productive arrangements of cattle and goat dairy in Oriental and Occidental Cariri of Paraíba from knowledge and technologies applied to the local reality. In the first study, which dealt with the quality of bovine milk, there was the prospect of meeting the requirements of quality required by Instruction 62 and the risk factors that influence the quality of milk. For this, samples were taken and applied questionnaires in 81 units of milk production in the municipalities of Caturité, Boqueirão, Barra de Santana and Queimadas. For the CPP was observed that 67% of properties were presented within the final recommendations of IN 62. The SCC found that only 4.9% of the properties were in disagreement with IN 62. For physicochemical parameters, the average values observed among all samples meet the requirements of the legislation. However, some properties individually presented values disagree limits required (33% in fat content, 4% of proteins, 41% nonfat dry, 25% acidity). Risk factors related to the increase in CPP were lack of technical assistance and the use of unsuitable utensils for milking, on the SCC were more than ten lactating animals and use disposable towels to dry teats. For fat risk factor for reduction was the dry season, it was time to up the protein and acidity cooling was not performing wash the teats. In the second study, there was an assessment similar to the first, however, in 160 units producing goat milk production in the municipalities of Monteiro, Sumé, São Sebastião do Umbuzeiro and Cabaceiras. The observed mean CPP was 5.1×10^6 CFU / mL. The coliform count at 35 °C averaged 6.7×10^5 CFU/mL. For E. coli was 8.8×10 CFU / mL. The count values for *Staphylococcus spp.* had a mean 1.2×10^6 CFU/mL. Detected the presence of *Staphylococcus aureus* in milk 5.6% of properties. In milk 1.3% of properties isolated *Salmonella enterica*. The SCC average was 2.2×10^6 cells/mL. The relative values of neutrophils, leukocytes and mononuclear cells were scaly 56.9, 40.7 and 2.4%, respectively. Risk factors for CPP were: absence of pre-dipping, non-

elimination first streams of milk and the presence of mastitis cases. For SCC were time activity in more than seven years, use of water reservoirs, total milk production of the property less than 25 kg/milk/day, duration of lactation longer than 210 days of drying weather goats by birth and not elimination of the first streams of milk. The third study, also conducted in units of goat milk production, mastitis goats treated and evaluated the effectiveness of SCC and CMT as diagnostic tools of indirect disease. The prevalence of clinical mastitis was 0.7%. The assessment of subclinical mastitis by CMT revealed that 25% positivity test. The analysis of correlation between CMT and microbiological isolation showed poor concordance with values of 28 and 21% for scores $\geq 1+$ and $\geq 2+$, respectively, and kappa index of 0.20. The scc ranged from 7.0×10^3 to 1.0×10^7 , with a mean of 1.4×10^6 cells/mL. The analysis of agreement between SCC and microbiological isolation showed values 22 and 16% agreement, with Kappa index of 0.17 and 0.14 for CCS ≥ 1 and 1.5 million cells/mL, respectively. Upon microbiological isolation 14.8% of teats and 19.3% of the animals were classified as breast mastíticos. The most prevalent organisms were coagulase negative *Staphylococcus* (71.7%), mainly *Streptococcus epidermis* (34%). The highest rates of resistance seen by the disk diffusion method were antimicrobial penicillin (77%), ampicillin (75%) and tetracycline (34%). The method of microdilution plates confirmed the results obtained by disk diffusion method, however, proved to be more effective in detecting resistance to certain antibiotics.

Key words: dairy, cattle, goat, risk factors, mastitis.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A Região Nordeste, historicamente, teve na atividade pecuária sua principal vocação produtiva no meio rural, principalmente devido às irregularidades pluviométricas que dificultam o sucesso da agricultura de sequeiro. Dentre outras, a bovinocultura e a caprinocultura leiteiras são atividades que apresentam incontestável importância cultural e socioeconômica. Nos últimos anos a atividade leiteira na Região passou por marcantes transformações, especialmente nos índices de produtividade.

No Estado da Paraíba a pecuária leiteira assumiu um importante papel na minimização da pobreza e redução dos índices de subnutrição infantil. Na Microrregião do Cariri Paraibano a bovinocultura e a caprinocultura leiteiras são as atividades agropecuárias de maior expressão. Entretanto, apesar da elevação nos índices de produtividade e da importância socioeconômica que a atividade leiteira assumiu, pouca atenção foi dada à qualidade do leite produzido, tanto bovino, quanto caprino. O conhecimento desta realidade norteou a concepção do tema e despertou para a necessidade de realização desta pesquisa, que direcionou-se à bovinocultura leiteira praticada no Cariri Oriental, especificamente nas cidades de Caturité, Boqueirão, Barra de Santana e Queimadas, e à caprinocultura leiteira do Cariri Ocidental, nas cidades de Monteiro, Sumé, Cabaceiras e São Sebastião do Umbuzeiro.

No contexto da bovinocultura, passou-se a enxergar as dificuldades que os produtores da região teriam em se adequar aos parâmetros de qualidade exigidos pela legislação em vigor. A instrução Normativa 51 (IN 51) estava em pleno período de implantação e não era conhecida com exatidão a qualidade microbiológica e a composição físicoquímica do leite produzido, nem tampouco os possíveis gargalos à melhoria da sua qualidade. As ações de assistência técnica eram baseadas em estudos realizados em outras regiões e em sistemas de produção com particularidades incomuns ao Cariri Paraibano. Além disso, os estudos existentes eram, na maioria das vezes, realizados de forma experimental, com condições controladas, que apesar de necessários e importantes, tratavam o tema qualidade do leite de forma simplificada e traziam poucas respostas. Neste sentido, esta pesquisa propôs-se a tratar a qualidade do leite de forma holística, levando em consideração os inúmeros componentes que podem influir na sua qualidade.

Relativamente à caprinocultura, enxergava-se a grande aptidão que o Estado da

Paraíba, em especial o Cariri Ocidental, apresentava para a atividade, considerando-se que ocupava o posto de maior produtor nacional do leite desta espécie. Entretanto, nenhum estudo avaliava de forma abrangente a qualidade do leite caprino produzido no arranjo produtivo do Cariri Paraibano. Estudo inicial realizado pela equipe do Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba verificou elevadas cargas bacterianas e contagens de células somáticas (CCS), entretanto, não havia subsídio para apontar as principais causas da baixa qualidade do leite. Adicionalmente, as elevadas CCS observadas sugeriam que a mastite poderia estar presente de forma intensa nos rebanhos da região, trazendo à tona a preocupação de não ser conhecida a etiologia e o perfil de resistência aos antimicrobianos dos microrganismos causadores da enfermidade. Por outro lado, constatou-se a dependência que a caprinocultura leiteira mantinha dos programas sociais, a exemplo o “Programa Leite Para Todos” dos Governos Estadual e Federal, o que tornava o mercado privado condição fundamental para o pleno desenvolvimento da atividade. Neste sentido, a melhoria da qualidade do produto seria imprescindível.

Diante do exposto, objetivou-se com este estudo avaliar a qualidade e determinar os fatores de risco a ela associados nos arranjos produtivos da bovinocultura, no Cariri Oriental, e da caprinocultura, no Cariri Ocidental, do Estado da Paraíba.

A tese está estruturada em três capítulos, em que o **Capítulo I** apresenta uma avaliação da qualidade do leite bovino com vistas ao atendimento às exigências da Instrução Normativa 62 e determina as práticas de manejo associadas à redução na sua qualidade.

No **Capítulo II** avaliou-se a qualidade microbiológica, perfil celular e fatores de risco associados à qualidade do leite caprino.

O **Capítulo III** aborda a etiologia, perfil de sensibilidade e concentração inibitória mínima dos antimicrobianos e, ainda, avalia a eficácia da CCS e do CMT como ferramentas de diagnóstico indireto da mastite caprina.

CAPÍTULO I

Identificação de Fatores Associados à Qualidade do Leite Bovino no Cariri Paraibano para sua Adequação à Instrução Normativa 62

Identificação de Fatores Associados à Qualidade do Leite Bovino no Cariri Paraibano para sua Adequação à Instrução Normativa 62

RESUMO

Objetivou-se com este estudo caracterizar os sistemas de produção, avaliar a qualidade do leite com vistas ao atendimento às exigências da Instrução Normativa (IN 62) e determinar as práticas de manejo associadas à redução na qualidade do leite bovino produzido no Cariri Paraibano. Para isto, coletou-se amostras do leite de conjunto em 81 propriedades para realização da contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios (CPP), contagem de células somáticas (CCS) e análises físicoquímicas. Adicionalmente, foi aplicado um questionário para levantar informações que explicassem a qualidade do leite. Para determinação dos fatores de risco foi utilizado um modelo de regressão. A CPP variou de $3,9 \times 10^3$ a $1,4 \times 10^8$ UFC/mL, com média de $6,4 \times 10^5$ UFC/mL, sendo observado que 67% das propriedades apresentaram CPP dentro das recomendações da IN 62. A CCS variou de 29.124 a 1.497.602 com média de 208.845 cel./mL, revelando que apenas 4,9% das propriedades estavam em desacordo com a IN 62. Relativamente aos parâmetros físicoquímicos do leite, os valores médios observados entre todas as amostras atendem aos requisitos da legislação. No entanto, individualmente algumas propriedades apresentaram valores em desacordo aos limites exigidos (33% para o conteúdo de gordura, 4% para proteínas, 41% para extrato seco desengordurado, 25% para acidez). Os fatores de risco relacionados ao aumento da CPP foram ausência de assistência técnica e uso de utensílios inadequados na ordenha; relacionados à CCS, foram mais de dez animais em lactação e uso de toalhas descartáveis na secagem dos tetos. Para o teor de gordura, o fator de risco para sua redução foi a estação seca; para proteína foi o tempo até o resfriamento e, para acidez, foi a não realização da lavagem dos tetos. As informações relativas aos fatores de risco apontadas por este estudo devem ser intensamente exploradas com vistas à melhoria da qualidade do leite produzido no Cariri Paraibano.

Palavras-chave: indicadores de qualidade, IN 62, ordenha higiênica, sistemas semi-intensivos.

Identifying Factors Associated with Quality Milk Bovine in Cariri of Paraiba for their Suitability to Brazilian Legislation

ABSTRACT

The objective of this study was to characterize the production systems, evaluating the quality of milk with a view to meeting the requirements of IN 62 and determine the management practices associated with reduced quality of bovine milk produced in Cariri of Paraiba. For this, samples were collected from whole milk in 81 properties to perform the standard plate count of mesophilic aerobic (CPP), somatic cell count (SCC) and physicochemical analyzes. Additionally, a questionnaire was administered to gather information to explain the quality of milk. To determine the risk factors we used a regression model. The CPP ranged from 3.9×10^3 to 1.4×10^8 CFU/ml, with a mean of 6.4×10^5 CFU/mL, was observed that 67% of properties had CPP within the recommendations of IN 62. The SCC ranged from 29,124 to 1,497,602 with an average of 208,845 cel./mL, revealing that only 4.9% of the properties were in disagreement with IN 62. For the physicochemical parameters of milk, the average values observed among all samples meet the requirements of the legislation. However, some properties individually presented values disagree limits required (33% in fat content, 4% of proteins, 41% nonfat dry, 25% acidity). Risk factors related to the increase in CPP were lack of technical assistance and the use of unsuitable utensils for milking, on the SCC were more than ten lactating animals and use disposable towels to dry teats. For fat risk factor for reduction was the dry season, it was time to up the protein and acidity cooling was not performing wash the teats. Information regarding risk factors highlighted by this study should be intensely explored with a view to improving the quality of milk produced in Cariri of Paraiba.

Key words: indicadores de qualidade, IN 62, ordenha higiênica, sistemas semi-intensivos.

INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira na região Nordeste do Brasil vem passando por transformações marcantes nos últimos anos, tornando-se um dos mais importantes setores da agropecuária na região, sendo desenvolvida em sua grande parte em pequenas propriedades com utilização de mão de obra familiar. Por outro lado, pouco se conhece sobre a qualidade do leite produzido, já que o sistema de produção, geralmente extensivo ou semi-intensivo com utilização de animais mestiços de zebuínos, apresenta diferenças significativas quando comparado a sistemas mais intensivos de produção, que utilizam animais altamente especializados. Diversos estudos sobre fatores associados à qualidade do leite têm sido realizados em países com tradição em pecuária leiteira como Estados Unidos, Canadá, Nova Zelândia; utilizando animais especializados e sistemas intensivos de produção (Barkema et al., 1999; Peeler et al., 2000; Suriyasathaporn et al., 2000; Elmoslemany et al., 2010). Por outro lado, existe carência de conhecimentos sobre variáveis associadas à qualidade do leite em regiões em desenvolvimento.

No Brasil, a partir de 2002, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL) e por meio da Instrução Normativa 51 (IN 51) passou a modernizar a legislação sanitária federal sobre o leite (Brasil, 2002). Recentemente esta Instrução Normativa foi atualizada, sendo substituída pela Instrução Normativa 62 (IN 62) (Brasil, 2011). De acordo com as novas exigências, para a região Nordeste, o limite estabelecido para contagem padrão em placas de mesófilos aeróbios (UFC/mL) e contagem de células somáticas (cel./mL) até dezembro de 2012 era de $7,5 \times 10^5$. De janeiro de 2013 até junho de 2015, o máximo estabelecido para os dois parâmetros decresce para $6,0 \times 10^5$. A partir de julho de 2015, o limite máximo permitido será de $3,0 \times 10^5$ UFC/mL e $5,0 \times 10^5$ cel./mL para mesófilos aeróbios e células somáticas, respectivamente. Em relação aos requisitos físico-químicos a IN 62 não alterou os padrões estabelecidos pela IN 51, que são: teor original com o mínimo de 3,0% para gordura, mínimo de 2,9% para proteínas, mínimo de 8,4% para extrato seco desengordurado e acidez na faixa entre 14 e 18 °Dornic (°D).

Apesar das exigências da legislação, poucos investimentos têm sido direcionados à melhoria da qualidade do leite na região Nordeste. Em anos de severa estiagem o tema

qualidade do leite é perigosamente deixado de lado. Devido à falta de programação dos produtores e à ineficiência das políticas públicas de convivência com a seca, a produção leiteira neste período sofre acentuada queda em quantidade e qualidade. Diante deste cenário, o Nordeste Brasileiro poderá passar por consideráveis dificuldades de adequação aos padrões de qualidade estabelecidos pela IN 62, já que, nesta região, a atividade é praticada basicamente por pequenos produtores, desprovidos, na maioria das vezes, de recursos e conhecimentos que lhes possam auxiliar no monitoramento da qualidade do leite. Portanto, objetivou-se com este estudo caracterizar os sistemas de produção, avaliar a qualidade do leite com vistas ao atendimento às exigências da Instrução Normativa 62 e determinar as práticas de manejo associadas à redução na qualidade do leite bovino produzido no Cariri Paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas, aleatoriamente, 81 propriedades leiteiras fornecedoras de uma cooperativa de laticínios localizada na microrregião do Cariri Oriental da Paraíba. As propriedades estão localizadas nos municípios de Caturité, Boqueirão, Barra de Santana e Queimadas, municípios localizados na mesma microrregião da cooperativa. Para avaliação da qualidade do leite, entre março de 2008 e julho de 2009, foi colhida em cada propriedade uma amostra (500 mL) em duplicata do leite de conjunto (latões ou tanques refrigerados), segundo recomendações do *National Mastitis Council* (NMC, 1999), utilizando-se materiais previamente esterilizados e procedimentos assépticos de colheita. As amostras foram mantidas sob refrigeração e analisadas num período máximo de seis horas após a colheita.

Para obtenção de informações relativas aos sistemas de produção, foi produzido um questionário (Apêndice 1), no qual foram abordados aspectos relacionados ao perfil dos proprietários, à caracterização das instalações e do rebanho, assim como características relacionadas ao manejo nutricional, sanitário e aos procedimentos de ordenha e, ainda, informações sobre a origem da água utilizada. Os questionários foram aplicados por meio de perguntas diretas e inspeção visual.

A enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios foi realizada por meio da contagem padrão em placas (CPP), segundo recomendações da *American Public Health Association* (APHA, 1999). Resumidamente, realizaram-se, a partir de diluições

seriadas (1:10), sementeiras em profundidade em Plate Count Agar (Oxoid, Inglaterra). As placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas em aerobiose.

A contagem de células somáticas (CCS) foi realizada por microscopia direta de acordo com a metodologia descrita por Prescott e Breed (1910). Um volume de 10 µL (em duplicata) foi distribuída em uma área de 1 cm² em lâmina de vidro previamente limpa e desengordurada. Após secagem, o esfregado foi fixado em metanol por 15 minutos; as lâminas foram secas e então coradas com a coloração de Rosenfeld (azul de metileno, eosina e metanol). Para o procedimento de coloração, as lâminas contendo o esfregado foram mantidas por um período de 4 minutos no corante Rosenfeld, a seguir passaram 8 minutos em um composto contendo o corante citado e água na proporção de 1:2. Os esfregados foram lavados em água destilada e submetidos à secagem em temperatura ambiente. Posteriormente procedeu-se a contagem, a qual foi realizada com auxílio de microscópio óptico (E-200, Nikon) utilizando-se aumento de 1.000 X, contando-se 60 campos em cada um dos esfregados. Após a contagem, calculou-se a média de células por campo e o número de células foi determinado por meio da seguinte equação: $N = FM \times X \times 100$, onde:

“N” é o número total de células somáticas em cada esfregado;

“FM” o fator microscópico;

“X” a média de células por campo e 100 o fator de conversão de µL para mL.

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba. Para o extrato seco total procedeu-se a secagem até obtenção de peso constante (AOAC, 1998). Utilizou-se o Lactobutírometro de Gerber (IAL, 2005) para a determinação da gordura. Por diferença entre o extrato seco total e o conteúdo de gordura, determinou-se o extrato seco desengordurado. O teor de lactose (g/100g) foi determinado segundo o método de redução de Fehling (IAL, 2005). Para proteína utilizou-se o método Micro-Kjedhl, com o fator 6,38 multiplicado pela porcentagem de nitrogênio (AOAC, 1998). A acidez foi determinada mediante titulação, sendo utilizada a acidez em ácido láctico (IAL, 2005).

Os dados foram analisados utilizando-se estatística descritiva convencional, através da qual foram determinados valores mínimos, máximos, médios e desvios padrão. Foram avaliados coeficientes de correlação entre variáveis físico-químicas, CPP e CCS.

Para investigação das variáveis influentes na qualidade do leite, foram realizadas análises univariadas para testar associações entre as variáveis independentes (caracterização do rebanho e das propriedades, manejo nutricional e sanitário e ainda, procedimentos higiênicos de ordenha) e as variáveis dependentes (CPP, CCS e composição). Na categorização dos valores, foram estabelecidas classes baseadas nos limites a serem adotados pela legislação brasileira (IN 62) para leite de conjunto, a partir de julho de 2015 (Brasil, 2011): contagem padrão em placas para mesófilos aeróbios (máximo de $3,0 \times 10^5$ UFC/mL), contagem de células somáticas (máximo de $5,0 \times 10^5$ cel./mL), gordura (mínimo de 3,0%), proteína (mínimo de 2,9%), extrato seco desengordurado (mínimo de 8,4%) e acidez (entre 14 e 18°D). Esta análise foi realizada a partir de tabelas de contingência analisadas pelo Teste Exato de Fisher ao nível de significância de 80%.

Posteriormente realizou-se uma análise de regressão logística. O critério de inclusão das variáveis no modelo de regressão logística considerou as variáveis que ofereciam explicação biológica coerente na alteração dos parâmetros de qualidade avaliados e $p \leq 0,20$.

As análises foram realizadas utilizando o software IBM SPSS Statistics Data Editor, versão 20.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1, 2 e 3 apresentam o diagnóstico dos sistemas de produção de leite bovino no Cariri Oriental Paraibano, relativamente às variáveis associadas ao perfil dos proprietários, caracterização das propriedades e dos rebanhos (Tabela 1), manejo nutricional e sanitário (Tabela 2) e procedimentos higiênicos de ordenha (Tabela 3).

Perfil dos proprietários

Dentre as propriedades estudadas (n=81), 51% dos proprietários estavam na atividade por um período igual ou superior a 20 anos. Apenas 22% do total de proprietários detinham ensino médio completo e apenas 7 (9%) possuíam ensino superior completo. Com relação à renda mensal oriunda da atividade leiteira, 67 (83%) dos proprietários declararam renda menor que 5 salários mínimos; 12 (15%) declararam renda entre 5 e 10 salários e apenas 2 (2%) renda igual ou superior a 10 salários

mínimos.

Caracterização das propriedades quanto às instalações

Das 81 propriedades, apenas 25 (31%) tinham sala de ordenha e, dessas, somente 6 apresentavam bom estado de conservação. Por outro lado, apenas 3 (4%) propriedades apresentaram estrutura física adequada ao processo de higienização e limpeza. A análise visual subjetiva no momento da aplicação do questionário apontou que 74 (91%) das propriedades apresentaram deficiências no processo de limpeza do local de ordenha.

Caracterização dos rebanhos

Em média, os rebanhos estudados apresentaram 12 animais em lactação, com uma média de produção diária de 115 kg de leite. A avaliação subjetiva da composição racial indicou a predominância de animais holandesados em 43 (53%) propriedades, animais mestiços holandês-zebu em 35 (43%) propriedades e vacas preponderantemente azebuadas em apenas 3 (4%) propriedades.

Características do manejo alimentar

A maioria das propriedades 62 (76%) tinha como sistema de produção o manejo semi-intensivo. O sistema a pasto ou extensivo era utilizado por 16 (20%) propriedades e apenas 3 (4%) tinham sistema intensivo de produção. Onze (14%) propriedades tinham como rotina em seu manejo realizar o arraçamento imediatamente após o término da ordenha.

Manejo sanitário e práticas de ordenha

Todos os proprietários afirmaram realizar vacinação contra a febre aftosa. Vacinas contra raiva, brucelose e clostridioses eram aplicadas em 80 (99%), 19 (23%) e 28 (35%) das propriedades, respectivamente. Em todos os rebanhos eram realizados exames anuais para diagnóstico de brucelose e tuberculose. Programas de controle de endo e ectoparasitos eram realizados em 59 (73%) e 76 (94%) propriedades, respectivamente (Tabela 2).

A mastite clínica era monitorada através do teste da caneca, em 10 (12%) rebanhos; já a mastite subclínica era monitorada através da contagem de células

somáticas ou do *California Mastitis Test* (CMT) em apenas 4 (5%) e 2 (2%) rebanhos, respectivamente.

Com relação à mastite, 51 (63%) produtores afirmaram já ter ocorrido casos no rebanho. Procedimentos de secagem dos animais não eram realizados em 28 (35%) propriedades e 69 (84%) não utilizavam nenhum medicamento na secagem. A linha de ordenha era realizada em 58% dos rebanhos.

O manejo da cria mais adotado na região é o de bezerro ao pé, observado em 78% das propriedades. A ordenha manual foi o sistema de ordenha mais comum, estando presente em 73 (90%) propriedades. Procedimentos como lavagem dos tetos, *pré-dipping* e *pós-dipping* eram realizados em 31, 22 e 18%, respectivamente, das propriedades. No ato de enxugar os tetos, panos comuns a todas as vacas eram utilizados em 7% dos rebanhos; 21% utilizavam toalhas de papel descartáveis e 67% não utilizavam nenhuma das opções, pois não faziam lavagem dos tetos.

Através de análise visual subjetiva das vestimentas e higienização pessoal, observou-se que os ordenhadores estavam adequadamente asseados apenas em 4 (5%) propriedades. Em apenas duas propriedades, a ordenha era realizada por mulheres.

Quanto ao armazenamento do leite, 10 (12%) propriedades tinham tanques de refrigeração próprios. Nas demais propriedades (88%), o leite era transportado para tanques coletivos ou diretamente para a plataforma de recepção do laticínio. O tempo médio decorrido desde a obtenção do leite até seu resfriamento era de 2 horas, variando desde proprietários que resfriavam em aproximadamente 5 minutos até outros que passavam cerca de 3 horas para realizar o resfriamento.

Informações sobre a água

Águas de superfície (açudes, barragens, lagoas ou rios) eram as fontes de abastecimento em 30% das propriedades; 43% eram abastecidas por poços artesianos e 27% pelo sistema público de distribuição. Quando questionados sobre o tratamento da água, apenas 19% dos produtores afirmaram realizar algum procedimento de tratamento.

Tabela 1 - Estatística descritiva para as variáveis avaliadas relacionadas ao perfil dos proprietários, caracterização das propriedades e dos rebanhos em sistemas de produção de leite bovino no Cariri Oriental Paraibano.

Variáveis avaliadas	Respostas	% de fazendas (n)
Município	Caturité	37 (30)
	Boqueirão	33 (27)
	Barra de Santana	25 (20)
	Queimadas	05 (04)
Idade do proprietário	Até 47 anos	51 (41)
	Acima de 47 anos	49 (40)
Tempo na atividade	Até 20 anos	51 (41)
	Superior a 20 anos	49 (40)
Realiza outras atividades	Sim	17 (14)
	Não	83 (67)
Renda mensal da atividade leiteira	Até 5 salários	83 (67)
	Superior a 5 salários	17 (14)
Possui sala de ordenha	Sim	31 (25)
	Não	69 (56)
Estado de conservação das instalações	Adequado	07 (06)
	Inadequado	93 (75)
Instalações adequadas à higienização	Sim	04 (03)
	Não	96 (78)
Composição racial	Holandesados	53 (43)
	Azebuados	47 (38)
Número de animais em lactação	Até 10	59 (48)
	Maior que 10	41 (33)
Produção total da propriedade	Até 50 Kg	43 (35)
	Maior que 50 Kg	57 (46)
Produção/animal (kg/dia)	Até 10	70 (57)
	mais de 10	30 (24)
Dispõe de assistência técnica	Sim	16 (13)
	Não	84 (68)

Tabela 2 - Estatística descritiva para as variáveis avaliadas relacionadas ao manejo nutricional e sanitário em sistemas de produção de leite bovino no Cariri Oriental Paraibano.

Variáveis avaliadas	Respostas	% de fazendas (n)
Sistema de produção	Intensivo ou semi-int.	80 (65)
	Extensivo	20 (16)
Fornece concentrado	Sim	79 (64)
	Não	21 (17)
Alimenta após a ordenha	Sim	14 (11)
	Não	86 (70)
Realiza CCS	Sim	05 (04)
	Não	95 (77)
Realiza CMT	Sim	03 (02)
	Não	97 (79)
Realiza vermifugação	Sim	73 (59)
	Não	27 (22)
Tem problemas com ectoparasitas	Sim	94 (76)
	Não	06 (05)
Tem problemas com mastite	Sim	63 (51)
	Não	37 (30)
Realiza secagem	Sim	65 (53)
	Não	35 (28)
Utiliza medicamentos à secagem	Sim	16 (13)
	Não	84 (68)
Manejo com Bezerro	Bezerro ao pé	78 (63)
	Desmame precoce	22 (18)
Tipo de ordenha	Manual	90 (73)
	Mecânica	10 (08)
Número de ordenhas por dia	Uma	09 (07)
	Mais de uma	91 (74)
Tempo da obtenção ao resfriamento do leite	Até 90 minutos	63 (51)
	> que 90 minutos	37 (30)
Realiza tratamento da água	Sim	19 (15)
	Não	81 (66)

Tabela 3 - Estatística descritiva para as variáveis avaliadas relacionadas aos procedimentos higiênicos de ordenha em sistemas de produção de leite bovino no Cariri Oriental Paraibano.

Variáveis avaliadas	Respostas	% de fazendas (n)
Local de ordenha	Sala de ordenha	28 (23)
	Curral	72 (58)
Limpeza do local de ordenha	Adequada	09 (07)
	Inadequada	91 (74)
Asseio do ordenhador	Adequado	05 (04)
	Inadequado	95 (77)
Realiza linha de ordenha	Sim	58 (47)
	Não	42 (34)
Realiza lavagem dos tetos	Sim	31 (25)
	Não	69 (56)
Realiza teste da caneca	Sim	12 (10)
	Não	88 (71)
Realiza pré- <i>dipping</i>	Sim	22 (18)
	Não	78 (63)
Realiza pós- <i>dipping</i>	Sim	18 (15)
	Não	82 (66)
Utiliza para enxugar os tetos	Toalhas de papel	21 (17)
	Pano ou não enxuga	79 (64)
Uso de coador e baldes higiênicos	Sim	63 (51)
	Não	37 (30)
Limpeza dos utensílios de ordenha	Adequada	14 (11)
	Inadequada	86 (70)

Contagem padrão em placas e contagem de células somáticas

A contagem padrão em placas para microrganismos mesófilos aeróbios (CPP) variou de $3,9 \times 10^3$ a $1,4 \times 10^8$ UFC/mL, com média de $6,4 \times 10^5$ UFC/mL. O valor médio observado para CPP na região é inferior ao observado em outros estudos realizados no Brasil (Viana et al., 2002, Nero et al., 2005, Ribeiro Neto et al., 2012). Ribeiro Neto et al. (2012) avaliaram um banco de dados contendo 107.914 amostras, pertencente ao Laboratório do Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros da

Região Nordeste (PROGENE), obtidas nos nove estados da região e verificou, em todos os Estados, valores médios de CPP superiores ao observado na presente pesquisa, relatando média geral para a Região de $1,19 \times 10^6$ UFC/mL.

Na Tabela 4, verifica-se o número de propriedades dentro dos intervalos de CPP baseados nos limites estabelecidos pela IN 62.

Tabela 4 – Distribuição das unidades produtoras de leite bovino cru refrigerado no Cariri Oriental Paraibano em função de diferentes valores para contagem padrão em placas (CPP) de microrganismos mesófilos aeróbios.

Contagem Padrão em Placas ¹ (UFC/mL) x 10 ⁵	Amostras ²	(%)
≤ 3	40	49,4
3,01 a 7,50	14	17,3
7,51 a 10,0	05	6,1
> 10,0	22	27,2

¹ Os limites $7,5 \times 10^5$, $6,0 \times 10^5$ e $3,0 \times 10^5$ UFC/mL referem-se aos valores de referência estabelecidos pela Instrução Normativa 62 (Brasil, 2011) para os anos de 2010 a 2012, 2012 a 2015 e a partir de 2015, na Região Nordeste, respectivamente.

² Número de amostras = Número de propriedades.

Os dados observados na Tabela 4 revelam que 54 (67,7%) amostras apresentaram CPP de microrganismos mesófilos aeróbios iguais ou inferiores ao limite máximo recomendado pela Instrução Normativa N° 62 (IN 62) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), que é de $7,5 \times 10^5$ UFC/mL, para leite cru refrigerado, válido para a Região Nordeste até dezembro de 2012. A porcentagem de propriedades em desacordo com os limites estabelecidos pela IN 62 neste estudo (33,3%) é semelhante à observada por Souto et al. (2009) no Estado de São Paulo (35%), entretanto, os referidos autores realizaram a comparação baseados no limite da IN 51 em vigor no período de realização do seu estudo que era de $1,0 \times 10^6$. Investigações realizadas no Sul (82%) e Centro-Oeste (75%) do país verificaram elevados números de propriedades em desacordo (Bueno et al., 2002, Viana et al., 2002, Nero et al., 2005). Valor inferior ao do presente estudo foi observado por Arcuri et al. (2006) na região de Minas Gerais e Rio de Janeiro, que detectaram apenas 17% de

propriedades em desacordo com limite estabelecido pela legislação para CPP.

Contudo, o valor de $7,5 \times 10^5$ UFC/mL, estabelecido pela IN 62, representa apenas a segunda etapa de uma gradativa redução do limite permitido, que será de $3,0 \times 10^5$ a partir de julho de 2015. Desta forma, aproximadamente 51% das propriedades estudadas estariam em desacordo com o limite a ser adotado no futuro. Portanto, deve ser considerado um planejamento continuado de redução da carga microbiana em função das exigências cada vez maiores.

As condições climáticas da Região Nordeste, comuns aos países de clima tropical, são favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos mesófilos, principalmente quando há manuseio e condições inadequadas de transporte e armazenamento do leite. Conseqüentemente, o leite pode apresentar carga microbiana elevada na plataforma de recepção dos laticínios, comprometendo a qualidade da matéria prima e gerando menor rendimento na produção de derivados. A obtenção higiênica do leite possibilita diminuir a contaminação e o crescimento da população de bactérias presentes. Quando a carga microbiana inicial do leite é elevada, os processos de beneficiamento e industrialização, geralmente, não são eficientes para a destruição dos microrganismos deteriorantes, e até mesmo dos microrganismos patogênicos (Feniman et al., 2006).

A contagem de células somáticas (CCS) variou de 29.124 a 1.497.602, com média de 208.845 cel./mL. Em se tratando de CCS em leite de conjunto, a média observada no presente estudo pode ser considerada dentro dos padrões desejados, sendo inferior às observadas em diversos estudos (Bueno et al., 2005; Sato et al., 2005). Ribeiro Neto et al. (2012) verificou CCS superiores à aqui observada em todos os estados da Região Nordeste.

Na Tabela 5, verifica-se a distribuição das unidades produtoras de leite bovino em função dos intervalos estabelecidos pela IN 62 para contagem de células somáticas para Região Nordeste nos períodos: anterior à implantação, de 2010 a 12/2012, 01/2013 a 06/2015 e a partir de 07/2015. Os valores revelam que apenas 4 (4,9%) propriedades apresentaram CCS superior ao limite máximo estabelecido pela IN 62, para a Região até dezembro de 2012, que é de 750.000 cel./mL. Considerando o limite a ser adotado pela referida legislação a partir do ano de 2015, de 500.000 cél./mL, 71 (87,7%) propriedades estariam dentro do limite.

Tabela 5 - Distribuição das unidades produtoras de leite bovino cru refrigerado no Cariri Oriental Paraibano em função de diferentes valores para contagem de células somáticas.

Contagem de células somáticas¹ (cel./mL) x 1.000	Amostras²	(%)
≤ 500	71	87,7
501 a 750	6	7,4
751 a 1.000	0	0
> 1.000	4	4,9

¹ Os limites de $7,5 \times 10^5$, $6,0 \times 10^5$ e $5,0 \times 10^5$ cel./mL referem-se aos valores de referência estabelecidos pela Instrução Normativa 62 (Brasil, 2011) para os anos de 2010 a 2012, 2012 a 2015 e a partir de 2015, na Região Nordeste, respectivamente.

² Número de amostras = Número de propriedades.

Informações do National Mastitis Council (NMC, 1996) revelam que quando a CCS do tanque de resfriamento atinge 500.000, 1.000.000 e 1.500.000 cel./mL, ocorrem perdas de produção de 6, 18 e 29%, respectivamente. Portanto, apesar da grande maioria das propriedades estudadas estarem dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, os valores de células somáticas/mL observados no presente estudo indicam que podem haver perdas econômicas substanciais. Desta forma, é importante que os produtores sejam orientados e se conscientizem no sentido de que, do ponto de vista econômico, não basta apenas atender aos limites estabelecidos pela legislação, deve haver um contínuo esforço em busca de reduzir as contagens de células no leite. Adicionalmente, a CCS em leite de conjunto pode ser empregada como um indicador das características higiênicas do leite (Santos e Fonseca, 2007). Há necessidade de avaliação individual dos animais para controle da mastite subclínica nas propriedades apresentando elevada CCS para leite conjunto. Elevações na CCS individual acima de 200.000 cel./mL sugerem a ocorrência de mastite, a qual reduz a quantidade de leite produzido pelo animal e causa alteração na composição do leite (Santos e Fonseca 2007; Langoni et al. 2011).

Análises físicoquímicas

Na Tabela 6, podem ser observados os valores médios e desvios padrão referentes à composição do leite nas propriedades estudadas, assim como os limites estabelecidos pela IN 62 e o número e porcentagem de propriedades estudadas que tiveram seu leite dentro dos padrões estabelecidos pela referida normativa.

Tabela 6 – Composição físicoquímica de 81 amostras de leite bovino cru refrigerado, colhidas em propriedades localizadas no Cariri Oriental Paraibano em relação aos valores de referência estabelecidos pela IN 62.

Constituintes (g /100 g)	Variação (média)	Valores de referência	Número (%) de propriedades dentro dos valores de referência
Gordura	1,80 – 5,05 (3,35)	≥ 3,0	54 (67%)
Proteínas	2,58 – 5,34 (3,63)	≥ 2,9	78 (96%)
Lactose	2,1 – 5,8 (4,85)	NE ⁴	----
EST ¹	7,9 – 13,17 (11,88)	NE ⁴	----
ESD ²	5,04 – 10,02 (8,5)	≥ 8,4	48 (59%)
Acidez ³	0,10 – 0,21 (0,15)	0,14 a 0,18	61 (75%)

¹ Extrato seco total;

² Extrato seco desengordurado;

³ Acidez expressa em gramas (g) de ácido láctico/ 100 g de amostra;

⁴ Constituinte não especificado na IN 62.

O elevado número de propriedades cujo leite não atingiu o teor mínimo de gordura especificado na legislação (33%) merece consideração. O teor de gordura do leite é susceptível à oscilações devido a vários fatores como genética, turno de ordenha, período de lactação, composição das dietas e sazonalidade (González et al., 2001). Como um dos componentes do leite que mais sofre variação, os valores de gordura encontrados em diversos trabalhos são, da mesma forma, bastante amplos. Ribas et al. (2004) e Sgarbieri et al. (2004) encontraram percentagens de gordura consideravelmente superiores às encontradas no presente estudo, 3,69 e 3,8 g/100g, respectivamente. Ribeiro Neto et al. (2012) verificaram percentuais médios de gordura superiores ao do presente estudo, em todos os Estados da Região Nordeste, observando um percentual

médio entre os Estados de 3,66 g/100g. De qualquer forma, o teor de gordura médio (3,1 g/100g) indica que o leite atende ao teor mínimo exigido pela IN 62. No entanto, isso não minimiza a necessidade de investigações sobre os principais fatores que determinam os baixos teores de gordura em algumas das propriedades estudadas, tendo em vista a importância econômica desse componente para a indústria beneficiadora.

O teor médio de proteínas observado entre as propriedades estudadas (3,63 g/100g) está de acordo e acima do exigido pela IN 62, que preconiza mínimo de 2,9 g/100g. Diferentemente do que foi observado para o conteúdo de gordura, um percentual relativamente pequeno de propriedades (4%) apresentou-se fora do padrão estabelecido pela legislação. O teor médio de proteínas encontrado no presente estudo é consideravelmente superior ao encontrado por Ribas et al. (2004) que observaram 3,3 g/100g, e por Ribeiro Neto et al. (2012) que verificaram percentuais inferiores aos do presente estudo em todos os Estados da Região Nordeste, com média de 3,16 g/100g .

A lactose, apesar da sua íntima relação com a qualidade microbiológica do leite, é um constituinte lácteo não mencionado na legislação. No presente estudo, o conteúdo de lactose (4,85 g/100g) mostrou-se superior aos valores encontrados por Ribas et al. (2004) e Ribeiro Neto et al. (2012), que foram 4,5 e 4,41 g/100g, respectivamente. A lactose é um dos nutrientes mais estáveis da composição química do leite, estando diretamente relacionada com a regulação da pressão osmótica, de forma que maior produção de lactose determina maior produção de leite com mesmo teor de lactose (González et al., 2001).

O extrato seco total (EST) de uma amostra de leite expressa a concentração de proteínas, lipídios, carboidratos e minerais. Na avaliação do extrato seco total, verificou-se teor médio de 11,88 g/100g. Valor superior ao do presente estudo foi verificado por Ribeiro Neto et al. (2012) (12,10 g/100g). O EST é um indicador importante devido à exigência de padrões mínimos no leite e pela influência no rendimento dos produtos lácteos, o que fundamenta sua adoção como parâmetro de pagamento por qualidade do leite em alguns sistemas de produção (Pereira et al., 2005). O baixo valor observado no presente estudo, quando comparado a outros, possivelmente está relacionado ao elevado número de propriedades com conteúdo de gordura abaixo dos padrões normais.

O valor médio obtido para o extrato seco desengordurado (ESD) (8,5 g/100g) está de acordo com o que determina a IN 62 (8,4 g/100g). Entretanto, apesar da média obtida entre o leite de todas as propriedades estarem dentro do que estabelece a legislação, existe um percentual relativamente elevado de propriedades (41%) que não atendem à legislação. Esse fato, possivelmente, decorre do número de propriedades que tiveram o teor de proteínas abaixo do especificado, somado às propriedades que apresentaram teores de lactose aquém dos valores normais para espécie bovina.

A acidez é normalmente utilizada como indicador do estado de conservação do leite, sendo reflexo das condições de obtenção e armazenamento do produto. Este parâmetro de qualidade varia em função da relação entre disponibilidade de lactose e produção de ácido láctico por ação microbiana (Silva et al., 2010), que acarreta em aumento na acidez e diminuição no teor de lactose. O valor médio observado para o teor de acidez no presente estudo (0,15 g de ácido/ 100 g de amostra) está dentro da faixa estabelecida pela IN 62 (0,14 a 0,18). Entretanto, assim como para os parâmetros gordura e extrato seco desengordurado, um considerável percentual de propriedades (25%) teve o leite fora dos padrões exigidos. Nesse contexto, devem ser considerados a carga microbiana inicial do leite, que está intimamente associada a questões de higiene, e o tempo que o produto leva até ser depositado nos tanques de resfriamento. Curiosamente, verificaram-se baixos coeficientes de correlação entre a contagem de microrganismos mesófilos e acidez ($r= 0,27$) e tempo de transporte e acidez ($r= 0,19$). Vale ressaltar que o tempo máximo registrado até o resfriamento do leite foi de 3 horas. Essa baixa variabilidade, possivelmente, não explicaria as diferenças de acidez entre as amostras, permitindo-se inferir que a elevada carga microbiana seja a principal causa dos valores altos de acidez para algumas amostras.

Fatores associados à qualidade do leite

O modelo final de regressão logística apontou algumas associações importantes entre as variáveis exploratórias (obtidas com os questionários) e alguns parâmetros de qualidade do leite (CPP, CCS, teor de gordura, teor de proteína e acidez). A Tabela 7 apresenta os fatores associados à redução na qualidade do leite.

Tabela 7 – Variáveis associadas à qualidade do leite bovino produzido no Cariri Oriental Paraibano.

Variável	Coef. β^1	E.P. β^2	OR³	IC⁴
Contagem padrão em placas				
<i>Assistência técnica</i>	-1,690	0,825	0,66	1,52-35,96
<i>Uso de utensílios adequados</i>	-1,033	0,508	0,72	1,38-9,47
<i>Intercepto</i>	1,812	0,778	-	-
Contagem de células somáticas				
<i>Menos de 10 animais em lactação</i>	-1,281	0,630	0,75	1,33-13,93
<i>Uso de toalhas de papel</i>	1,662	0,640	20,79	0,05-0,54
<i>Intercepto</i>	0,891	0,644	-	-
Teor de gordura				
<i>Estação chuvosa</i>	22,359	12710,140	6,75	0,47-0,94
<i>Intercepto</i>	-21,203	12710,140	-	-
Teor de proteínas				
<i>Resfriamento em até 90 minutos</i>	19,006	5628,142	2,89	2,13-3,92
<i>Intercepto</i>	2,197	0,609	-	-
Acidez				
<i>Lavagem dos tetos</i>	-19,550	8038,594	0,29	1,29-1,81
<i>Intercepto</i>	21,203	8038,594	-	-

¹ Coeficiente β ; ² Erro padrão do coeficiente β ; ³ Odds Ratio; ⁴ Intervalo de confiança da Odds Ratio.

Observou-se que a ausência de assistência técnica esteve fortemente associada à elevação da CPP. Como pode ser observado na Tabela 7, propriedades que não são assistidas por um profissional tiveram maiores probabilidades de produzir leite com CPP acima de $3,0 \times 10^5$ UFC/mL. Em estudo realizado no Sertão pernambucano, Oliveira Júnior et al. (2012) verificaram associações significativas entre a ausência de assistência técnica e a mastite bovina, sendo a mastite uma das causas de elevação da CPP. Dentre os pontos monitorados por um técnico em propriedades leiteiras, as “Boas Práticas de Ordenha” estão entre os que recebem maior atenção. Procedimentos como lavagem dos tetos, uso de toalhas de papel, adoção do *pré e pós-dipping*, uso de utensílios adequados, entre outros, são indispensáveis, sendo a orientação sobre sua utilização obrigatória em um plano de assistência técnica. Desta maneira, os resultados do presente estudo reforçam a necessidade de um profissional capacitado para orientar os produtores da região em questão.

Outro procedimento fortemente associado à CPP maior que $3,0 \times 10^5$ UFC/mL foi a utilização de utensílios inadequados na ordenha. Constatou-se que diversos produtores utilizam panos para filtrar o leite e ainda, baldes inadequadamente limpos. Propriedades que não utilizavam telas de nylon e baldes que favorecessem uma boa higienização tiveram chances maiores de produzir leite fora do limite a ser adotado pela IN 62 ($3,0 \times 10^5$ UFC/mL).

Em relação à CCS, as variáveis apontadas pelo modelo foram: número de animais em lactação maior que dez e a utilização de toalhas de papel na secagem dos tetos. Como pode ser visto na Tabela 7 propriedades que possuíam rebanhos com mais de dez animais em lactação tiveram maiores probabilidades de produzir leite com CCS em desacordo com o padrão a ser adotado pela IN 62 ($5,0 \times 10^5$ cel./mL). Apesar de não ser bem clara a relação entre tamanho do rebanho e a CCS, pode-se fazer algumas inferências baseado nas características das propriedades observadas durante a realização do estudo. Foi possível observarmos, em diversas propriedades que possuíam rebanhos maiores, que os produtores não tinham nenhum tipo de controle zootécnico sobre seus animais, não realizavam procedimentos assépticos de ordenha e ainda, os animais eram ordenhados em grandes currais que não ofereciam condições de ser realizada uma limpeza adequada. É bem conhecido que esses fatos podem contribuir com o

surgimento e acúmulo de patógenos causadores da mastite, fato que pode estar relacionado à elevação da CCS observada nas propriedades com rebanhos maiores.

Curiosamente, uma prática amplamente recomendada para redução da CCS, esteve nesse estudo associada à sua elevação. A utilização de toalhas de papel na secagem dos tetos foi associada à elevação da CCS. No entanto, esta pode ser uma variável confundidora, fato algumas vezes observado e tido como uma das limitações dos estudos transversais. Existe a possibilidade de alguns produtores estarem usando as toalhas de papel, justamente porque tinham anteriormente problemas de mastite, muitas vezes causados pelo uso de panos coletivos. A utilização de panos comuns a todos os animais pode ser um veículo de contaminação do leite, devido ao acúmulo de matéria orgânica à medida que este vai sendo reutilizado, além de veicular patógenos entre animais e, em muitos casos, contribuir na transmissão da mastite e elevação da CCS. Esta é uma prática inadequada comumente observada em rebanhos leiteiros (Souza et al., 2005).

O teor de gordura do leite é susceptível a oscilações devido a vários fatores como genética, turno de ordenha, período de lactação, composição das dietas, estação do ano e sazonalidade (González et al., 2001), informação que corrobora os achados do presente estudo, onde foi observado que na estação seca ocorreu uma tendência do leite apresentar teores de gordura abaixo da exigência mínima da IN 62 (mínimo de 3,0%). Com as observações relativas ao manejo nutricional realizadas durante o trabalho, identificou-se algumas causas do baixo teor de gordura observado. Na estação seca o aporte de forragem para pastejo é reduzido substancialmente e os animais recebem suplementação de forragem e concentrado, entretanto, a principal fonte de forragem utilizada na região é a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*), sendo em algumas propriedades fornecida em grandes quantidades ou até mesmo como único volumoso, tornando as dietas pobres em fibras. De acordo com Berchielli et al. (2006), rações de vacas em lactação com teor insuficiente de fibra causa, entre outras consequências, a redução no teor de gordura do leite. Isso ocorre devido a uma menor produção de acetato, um importante precursor da gordura do leite. Adicionalmente, na estação seca os produtores da região fornecem maiores quantidades de concentrado aos animais. A digestão dos carboidratos não estruturais presentes nos concentrados favorece a produção de propionato, ácido graxo volátil que está associado a elevação no volume

de leite produzido, sendo assim, o aumento do volume produzido pode ocasionar diluição da gordura, contribuindo para redução do teor total de gordura do leite.

O teor de proteínas apresentou uma forte associação com o tempo decorrido desde a obtenção até o resfriamento do leite. Nas propriedades em que este tempo era superior 90 minutos, a probabilidade de se obter leite com teor de proteínas abaixo de 2,9 era maior. Apesar de não ter sido realizada contagem total de microrganismos psicrotóxicos, sugere-se que esta redução no teor de proteínas pode ser decorrente de elevado crescimento desta classe microbiana. É bem conhecido que os microrganismos psicrotóxicos podem produzir enzimas que degradam a fração proteica do leite. Estes microrganismos crescem preferencialmente a baixas temperaturas, no entanto, quando as condições de higiene na obtenção do leite são precárias podem alcançar elevadas concentrações no leite cru (Pinto et al., 2006).

A ausência de lavagem dos tetos antes da ordenha apresentou um elevado coeficiente de associação com a presença de leite ácido (acima de 18 °D), propriedades que não realizavam lavagem dos tetos antes da ordenha tiveram maior probabilidade de produzir leite com grau de acidez em desacordo com o limite máximo permitido pela legislação. O leite geralmente torna-se ácido devido à presença de elevadas cargas de microrganismos que metabolizam a lactose, transformando-a em ácido láctico. É conhecido que a lavagem dos tetos antes da ordenha é uma prática crucial na redução da contaminação microbiana no leite (Magnusson et al., 2006). Além disso, a limpeza inadequada dos tetos está associada a elevações da contagem bacteriana em leite de tanques (Elmoslemany et al., 2009). Apesar do modelo de regressão logística não ter apontado a variável lavagem dos tetos como associada à elevação da CPP, esta variável foi significativamente associada quando submetida à análise bivariada, sugerindo a possibilidade de associação entre elas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como pôde ser verificado, a bovinocultura leiteira no Estado da Paraíba é praticada em sua grande maioria por pequenos produtores e com baixo nível tecnológico, tanto no aspecto nutricional quanto sanitário. Relativamente à contagem padrão em placas e contagem de células somáticas, grande parte dos produtores atende aos requisitos atuais da legislação, entretanto, providências devem ser tomadas para atender aos requisitos futuros da IN 62. De modo geral, a composição do leite observada neste estudo atende aos requisitos da IN 62, no entanto, individualmente muitas propriedades estão em desacordo, fato possivelmente relacionado a desequilíbrios nutricionais, exigindo a realização de estudos para solucionar o problema. Os procedimentos apontados pelo modelo de regressão logística como fatores de risco (ausência de assistência técnica, uso de utensílios inadequados, desbalanço nutricional na estação seca, demora no resfriamento do leite e ausência de lavagem dos tetos) devem ser intensamente combatidos para a melhoria da qualidade do leite produzido na região. Os resultados obtidos com o presente estudo são de grande relevância para a tomada de decisões que objetivem a melhoria da qualidade do leite na Região Nordeste do Brasil, auxiliando os produtores desta região na adequação aos parâmetros de qualidade do leite exigidos pela legislação brasileira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Committee on microbiological methods for foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** Washington: American Public Health Association, 1999, 701p.
- AOAC. Official Methods of Analysis. Vol I. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington VA, 1998.
- ARCURI, E.F.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F. et al. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.3, p.440-446, 2006.
- BARKEMA, H. W.; VAN DER PLOEG, J. D.; SCHUKKEN, Y. H. et al. Management style and its association with bulk milk somatic cell count and incidence rate of clinical mastitis **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1655–1663, 1999.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal:Funep. 583p., 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Instrução normativa N° 51 de 18 de setembro de 2002. **Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel** [Instrução Normativa N° 51. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Instrução normativa N° 62 de 29 de dezembro de 2011. **Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite Cru Refrigerado, Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel** [Instrução Normativa N° 62. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2011.
- BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; NICOLAU, E.S. et al. Parameters of microbiological quality of raw milk and water in dairy farms in Goiás state - Brazil. In: II Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite, **Anais...** Ribeirão Preto, SP, 24 a 27 de novembro de 2002.

- BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; NICOLAU, E.S. et al. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p. 848-854, 2005.
- ELMOSLEMANY, A. M.; KEEFE, G. P.; DOHOO, I. R. et al. Risk factors for bacteriological quality of bulk tank milk in Prince Edward Island dairy herds. Part 1: Overall risk factors. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.6, p.2634-2643, 2009.
- ELMOSLEMANY, A. M.; KEEFE, G. P.; DOHOO, I. R. et al. The association between bulk tank milk analysis for milk quality and on-farm management practices. **Preventive Veterinary Medicine**, v.95, n.6, p.32-40, 2010.
- FENIMAN, C.M.; PASINI, G.; MUCELIN, C.A. Avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo “C”, comercializado no município de medianeira, PR. **Higiene Alimentar**, v.17, n.10, p.77-86, 2006.
- GONZÁLEZ F.H.D.; DURR J.W.; FONTANELLI R., editores. **Uso de leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre, 2001, 72p.
- IAL - Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo (SP): **O Instituto**, 2005.
- LANGONI, H.; PENACHIO, D.S.; CITADELLA, J.C.C. et al. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.12, p.1059-1065, 2011.
- MAGNUSSON, M.; CHRISTIANSSON, A.; SVENSSON, B. et al. Effect of different premilking manual teat-cleaning methods on bacterial spores in milk. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.7, p.3866-3875, 2006.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Current concepts of bovine mastitis**. Madison, 4.ed., 1996, 64p.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. **Natl. Mastitis Council Inc.**, Madison, WI., 1999.
- NERO, L. A.; MATTOS M. R., BELOTI, V. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela instrução normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.5, p.191-195, 2005.

- OLIVEIRA JÚNIOR, M.B.; VANDERLEI, D.R.; MORAES, W.S. et al. Fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Garanhuns, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.5, p.391-395, 2012.
- PEELER, E. J.; GREEN, M. J.; FITZPATRICK, J. L. et al. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. **Journal of Dairy Science**. V.83, n.5, p.2464-2472, 2000.
- PEREIRA, R.A.G.; QUEIROGA, R.C.R.E.; VIANNA, R.P.T. et al. Qualidade química e física do leite de cabra distribuído no Programa Social “Pacto Novo Cariri” no Estado da Paraíba. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.64, n.7, p.205-211, 2005.
- PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETTI, M.C.D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotóxicas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.645-651, 2006.
- PRESCOTT, S.C.; BREED, R.S. The determination of number of body cells in milk by direct method. **Journal of Infection Disease**, n.7, p.632, 1910.
- RIBAS, N. P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H. G.; ANDRADE, U. V. C. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.2343-2350, 2004.
- RIBEIRO NETO, A.C.; BARBOSA, S.B.P.; JATOBÁ, R.B. et al. Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região Nordeste. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.5, p.1343-1351, 2012.
- SANTOS, M.V; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007, 314p.
- SATO, K.; BARTLETT, P.C.; ERSKINE, R.J. et al. A comparison of production and management between Wisconsin organic and conventional dairy herds. **Livestock Production Science**, v. 93, n.7, p. 105-115, 2005.
- SGARBIERI, V.C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro do leite. **Revista de Nutrição**, v.17, n.4, p.397-409, 2004.
- SILVA, M.A.P.; SANTOS, P.A.; LEÃO, K.M. et al. Qualidade do leite na indústria de laticínios. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.1, p. 23-28, 2010.
- SOUTO, L.I.M.; SAKATA, S.T.; MINAGAWA, C.Y. et al. Qualidade higiênico-sanitária do leite cru produzido em propriedades do Estado de São Paulo. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.3, p.491-499, 2009.

- SOUZA, G.N.; BRITO, J.F.R.; MOREIRA, E.C. et al. Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.10, p.251-260, 2005.
- SURIYASATHAPORN, H.; SHUKKEN, W., Y. H.; NIELEN, M. et al. low Somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.7, p.1248-1255, 2000.
- VIANA, L. R.; HENZEL, A.; SPRICIGO, D. A. et al. Qualidade do leite in natura recebido pela usina escola de laticínios da UFSM. **XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, Gramado, RS, 10 a 14 de outubro de 2002.

CAPÍTULO II

Fatores Associados a Indicadores Microbiológicos e Celularidade no Leite Caprino

Fatores Associados a Indicadores Microbiológicos e Celularidade no Leite Caprino

RESUMO

Objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica, perfil celular e fatores de risco associados à qualidade do leite caprino produzido em propriedades de base familiar na microrregião do Cariri Paraibano. Para isto realizou-se um estudo transversal em 160 propriedades produtoras de leite caprino. Amostras do leite de conjunto foram colhidas assepticamente para realização das análises microbiológicas e perfil celular. Adicionalmente, foi aplicado um questionário no qual foram relacionados aspectos relativos à caracterização dos proprietários e das propriedades, práticas gerais de manejo e procedimentos de ordenha. Para determinação dos fatores de risco foi utilizado um modelo de regressão logística no qual foram inseridas variáveis pré-selecionadas pela análise univariada (Teste Exato de Fisher). A contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios (CPP) variou de $1,0 \times 10^2$ a $7,8 \times 10^7$, com média de $5,1 \times 10^6$ UFC/mL. A contagem de coliformes a 35 °C variou de $1,6 \times 10$ a $2,1 \times 10^7$, com média de $6,7 \times 10^5$ UFC/mL. Para *E. coli* os valores variaram de 0 a $3,5 \times 10^3$ com valor médio de $8,8 \times 10$ UFC/mL. Os valores de contagem para *Staphylococcus spp.* variaram entre 0 e $3,1 \times 10^7$, com média de $1,2 \times 10^6$ UFC/mL. Detectou-se a presença de *Staphylococcus aureus* no leite de 5,6% das propriedades. No leite de 1,3% das propriedades isolou-se *Salmonella enterica*. A contagem total de células somáticas (CCS) variou de $2,3 \times 10^5$ a $1,1 \times 10^7$ com média de $2,2 \times 10^6$ células/mL. Os valores relativos de neutrófilos, leucócitos mononucleares e células descamativas foram 56,9, 40,7 e 2,4%, respectivamente. Os fatores de risco para CPP foram: ausência do pré-dipping, não eliminação dos primeiros jatos de leite e a existência de casos de mastite. Para CCS foram: tempo na atividade maior que sete anos, utilização de água de açudes, produção total de leite da propriedade inferior a 25 kg/leite/dia, duração de lactação maior que 210 dias, secagem das cabras por previsão do parto e não eliminação dos primeiros jatos de leite. As informações geradas por este estudo servirão de base para programas de melhoria da qualidade do leite caprino no Cariri Paraibano.

Palavras-chave: caprinocultura leiteira, contagem diferencial de células somáticas, microrganismos indicadores, sistemas semi-intensivos.

Factors Associated with Microbiological Indicators and Cellularity in Goat Milk

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the microbiological, cellular profile and risk factors associated with the quality of the goat milk produced in smallholder in Cariri of Paraiba. For this we carried out a longitudinal study in 160 milk producing goat. Samples of milk were collected aseptically set to perform the microbiological and cell profile. Additionally, we applied a questionnaire in which they were related aspects of characterization and property owners, general management practices and procedures for milking. To determine the risk factors we used a logistic regression model in which variables were entered pre-selected by univariate analysis (Fisher's Exact Test). The standard plate count of mesophilic aerobic (CPP) ranged from 1.0×10^2 to 7.8×10^7 , with a mean of 5.1×10^6 CFU/mL. The coliforms count at 35 °C ranged from 1.6×10^4 and 2.1×10^7 , with a mean of 6.7×10^5 CFU/mL. For *E. coli* values ranged from 0 to 3.5×10^3 with a mean value of 8.8×10 CFU/mL. The count values for *Staphylococcus spp.* ranged between 0 and 3.1×10^7 , with a mean of 1.2×10^6 CFU/mL. Detected the presence of *Staphylococcus aureus* in milk 5.6% of properties. In milk 1.3% of properties isolated *Salmonella enterica*. The somatic cell count (SCC) ranged from 2.3×10^5 to 1.1×10^7 with a mean of 2.2×10^6 cells/mL. The relative values of neutrophils, leukocytes and mononuclear cells were 56.9, 40.7 and 2.4% respectively. Risk factors for CPP were: absence of pre-dipping, non-elimination first streams of milk and the presence of mastitis cases. For SCC were time activity in more than seven years, use of water reservoirs, total milk production of the property less than 25 kg/milk/day, duration of lactation longer than 210 days of drying weather goats by birth and not elimination of the first streams of milk. The information generated by this study will form the basis for programs to improve the quality of goat milk in Cariri of Paraiba.

Key words: goat milk somatic cell count differential, indicator microorganisms, semi-intensive systems.

INTRODUÇÃO

A caprinocultura leiteira representa uma das mais importantes atividades no contexto da agricultura familiar para o estado da Paraíba, sendo este o maior produtor nacional de leite caprino. De acordo com informações da Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária e da Pesca (Sedap) e da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (Emater) da Paraíba, o estado possui em torno de 1.500 produtores formais de leite de cabra, estes chegam a produzir até 20.000 litros de leite/dia o que representa, aproximadamente, 20% da produção brasileira. Dentre as regiões produtoras de leite caprino no estado da Paraíba, a microrregião do Cariri Paraibano responde por aproximadamente 90% da produção do estado.

Apesar da importância socioeconômica que o leite caprino apresenta, sua qualidade ainda é pouco estudada e, muitas vezes, negligenciada. Os estudos realizados na região nordeste do Brasil apontam elevadas contagens bacterianas e de células somáticas, além do frequente isolamento de patógenos mastíticos (Beltrão Filho, et al., 2008; Neves et al., 2010; Peixoto et al., 2010). A baixa qualidade do leite é um dos entraves ao pleno desenvolvimento da cadeia láctea da caprinocultura, seja pela rejeição dos consumidores ou pelos prejuízos associados à produção de leite com baixa qualidade, dentre eles, destaca-se o aumento nos casos de mastite e o menor rendimento industrial dos derivados.

Os métodos disponíveis para avaliação dos indicadores microbiológicos do leite encontram-se bem difundidos e apresentam boa eficácia. Da mesma forma, para o isolamento e identificação dos patógenos que podem estar presentes no leite, os métodos analíticos encontram-se bastante desenvolvidos, principalmente com o uso cada vez mais frequente dos métodos moleculares que vêm propiciando o aumento na rapidez, sensibilidade e especificidade de detecção. Por outro lado, a contagem de células somáticas, outro importante indicador de qualidade do leite e saúde da glândula mamária, necessita de intensas pesquisas para a espécie caprina, pois os padrões utilizados para outras espécies não se aplicam para o leite caprino. A contagem de células somáticas em cabras livres de mastite é maior que em vacas ou ovelhas também sadias (Paape et al., 2007). A secreção do leite na cabra é do tipo apócrina, diferente da secreção merócrina observada em vacas, o que resulta no desprendimento de partículas citoplasmáticas no leite caprino, sendo estas partículas, dependendo do método de

contagem, erroneamente incluídas como células de defesa (Paape e Capuco, 1997; Paape et al., 2001).

Poucos estudos avaliaram fatores de risco associados à qualidade do leite caprino. Na região do Cariri Paraibano estes estudos são inexistentes, impossibilitando inclusive a realização de comparações e o estabelecimento de padrões. Oliveira et al. (2011) realizaram um estudo sobre fatores de risco associados a qualidade do leite bovino na região em questão e observaram algumas práticas de manejo associadas à redução na qualidade do leite, no entanto, as informações geradas neste e em outros estudos realizados no país não aplicam-se aos sistemas nordestinos de produção de leite caprino, que apresentam particularidades não observadas em outros sistemas.

Devido à carência de informações relacionadas à qualidade do leite caprino produzido na região, objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica, perfil celular e fatores de risco associados à qualidade do leite caprino produzido na microrregião do Cariri Paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas amostras de leite caprino em 160 propriedades de base familiar localizadas no Cariri Paraibano. A colheita foi realizada utilizando-se materiais previamente esterilizados, segundo recomendações do *National Mastitis Council* (NMC, 1999). As amostras foram mantidas sob refrigeração e levadas ao Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (LAPOA/ CCA/UFPB) para realização das análises.

Para colheita de informações relativas aos sistemas de produção foi produzido um questionário próprio (Apêndice 2), no qual foram abordados aspectos relacionados ao perfil dos proprietários, à caracterização das instalações e do rebanho, assim como características relacionadas ao manejo nutricional, sanitário e aos procedimentos de ordenha e, ainda, informações sobre a origem da água utilizada. Os questionários foram aplicados por meio de perguntas diretas e inspeção visual.

A contagem total de bactérias aeróbias mesófilas (CPP), coliformes totais e *Escherichia coli* foi realizada de acordo com APHA (1999), com modificações. As amostras foram diluídas seriadamente (1:10) e alíquotas (1 mL) foram semeadas em profundidade em placas de Petri, as quais receberam 17 mL de *Plate Count Agar* – PCA

(Acumedia, Estados Unidos) (CPP) ou ágar *Violet Red Bile Agar* – VRBA, suplementado com MUG (Acumedia, Estados Unidos) (coliformes totais e *Escherichia coli*) previamente fundido e mantido a 45°C. Após homogeneização, realizada cuidadosamente através de movimentos orbitais suaves e padronizados, as placas foram mantidas em temperatura ambiente até a solidificação do ágar, sendo incubadas a 35-37 °C por 48 horas. As placas de VRBA com crescimento característico de coliformes foram expostas à luz ultra violeta para verificar a presença de fluorescência, indicativo da presença de *E. coli*. O número total de microrganismos foi determinado nas placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias, sendo expresso em UFC/mL.

A enumeração de *Staphylococcus spp.* e *Staphylococcus aureus* foi realizada segundo Bennett e Lancette (1998), com modificações. Após diluições, alíquotas das amostras foram semeadas em ágar Baird Parker (Acumedia, Estados Unidos) e incubadas a 35-37°C por 48 horas. Após o período de incubação, foi feita a enumeração total de colônias de *Staphylococcus spp.* em UFC/mL e a partir destas colônias, selecionadas, em média, três colônias típicas e três atípicas e transferidas para caldo de infusão cérebro coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. A partir de cada subcultivo, os isolados foram submetidos à coloração de Gram e provas bioquímicas de catalase, coagulase, fermentação da maltose e do manitol, além de hemólise em ágar sangue de carneiro.

Para o isolamento de *Salmonella enterica*, foi utilizado protocolo descrito por Andrews e Hammack (1998), com algumas modificações. As amostras (25 mL) foram pré-enriquecidas em 225 caldo lactosado (Acumedia, Estados Unidos) e incubadas a 37 °C, por 24 horas. Posteriormente, alíquotas de 0,1 e 1 mL foram transferidas para os caldos Rappaport-Vassiliadis (RV) (Acumedia, Estados Unidos) e tetracionato Muller-Kauffmann (TT) (Acumedia, Estados Unidos), respectivamente. As amostras inoculadas em caldo RV foram enriquecidas em banho-maria a 42 °C por 24 horas. Aquelas inoculadas em caldo TT foram mantidas em estufa microbiológica a 37 °C por 24 horas. Com auxílio de alça de platina, as amostras foram semeadas em placas contendo ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) (Acumedia, Estados Unidos) e ágar Hektoen (HE) (Acumedia, Estados Unidos) e incubadas a 37 °C, por 24 horas. Colônias identificadas presumivelmente como *Salmonella* foram transferidas para os ágar tríplice-açúcar-ferro (TSI) (Acumedia, Estados Unidos) e lisina (LIA) (Acumedia, Estados Unidos).

Mediante resultados bioquímicos característicos, a identificação definitiva foi realizada através do teste de aglutinação em lâmina, utilizando-se soro anti-antígeno polissomático (anti-O) (Probac, Brasil).

A contagem de células somáticas foi realizada por microscopia direta (Prescott e Breed, 1910). Resumidamente, 10 μL de leite foram distribuídos em uma área de 1 cm^2 em lâmina de microscopia e secas a 42 $^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, foram fixadas em solução de *Carnoy* e coradas em solução de pironina-Y e verde de metila (Zeng et al., 1999). Para avaliação do número de células, foram contados, em duplicata, 60 campos utilizando-se microscópio óptico com objetiva de imersão. Após a contagem foi calculada a média de células por campo e o número de células foi determinado com o auxílio da seguinte equação: $N=FM \times X \times 100$, onde: N é o número total de células somáticas em cada esfregaço, FM o fator microscópico, X a média de células por campo e 100 o fator de conversão de 10 μL para 1 mL.

Os dados foram analisados utilizando-se estatística descritiva convencional, através da qual foram determinados valores mínimos, máximos, médios e desvios padrão. Foram avaliados os coeficientes de correlação entre variáveis microbiológicas, contagem de células somáticas (total e diferencial), sendo utilizado o Coeficiente de Spearman devido ao elevado coeficiente de variação, comum a dados desta natureza.

Para investigação dos fatores de risco associados à qualidade do leite, foram realizadas análises univariadas para identificar associações entre as variáveis independentes (Perfil dos proprietários, caracterização dos rebanhos e das propriedades, manejo nutricional e sanitário e ainda, procedimentos higiênicos de ordenha) e as variáveis dependentes (CPP e CCS). Para isto, foram estabelecidas classes baseadas no percentil 75 para as variáveis independentes. Para categorização da CPP utilizou-se o parâmetro estabelecido pela IN 37 (Brasil, 2000) que é de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL. Por não existir padrão para CCS em leite caprino na legislação brasileira utilizou-se o limite de $1,0 \times 10^6$, limite normal para CCS caprina e, ainda, é o limite máximo adotado para CCS em leite caprino nos Estados Unidos. A análise foi realizada a partir de tabelas de contingência (teste de qui-quadrado) analisadas pelo teste exato de Fisher ao nível de significância de 80%. Posteriormente realizou-se uma análise de regressão logística. O critério de inclusão das variáveis no modelo de regressão logística considerou as variáveis que ofereciam explicação biológica coerente na alteração dos parâmetros de

qualidade avaliados e $P \leq 0,20$. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SPSS versão 20.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios

A contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios (CPP) variou de $1,0 \times 10^2$ a $7,8 \times 10^7$, com média de $5,1 \times 10^6$ UFC/mL.

Os dados observados revelam uma situação preocupante quanto à qualidade do leite caprino produzido nas propriedades estudadas. Considerando-se o limite máximo para CPP estabelecido pela Instrução Normativa 37/2000 (IN 37) (Brasil, 2000) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), que é de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL para leite cru, verifica-se que 48,1% das propriedades estão produzindo leite em desacordo com a legislação (Tabela 1). Mais preocupante ainda é o fato de ter-se observado amostras com CPP acima de $1,0 \times 10^7$, chegando até o valor extremo de 78 milhões de unidades formadoras de colônia por mL de leite. Gracindo et al. (2011) realizaram estudo no estado do Rio Grande do Norte em sistemas de produção de leite caprino semelhantes aos das propriedades do presente estudo e observaram que 20% das amostras analisadas estavam com CPP acima do limite estabelecido pela IN 37, percentagem bem inferior a observada no presente estudo.

Tabela 1 – Distribuição das propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano em função dos níveis de contaminação do leite *in natura* por microrganismos mesófilos aeróbios (UFC/mL).

Níveis de contaminação por microrganismos mesófilos aeróbios (UFC/mL)	Número de propriedades	Valor percentual (%)
Até $5,0 \times 10^5$	83	51,9
Maior que $5,0 \times 10^5$ a $1,0 \times 10^6$	17	10,6
Maior que $1,0 \times 10^6$ a $1,0 \times 10^7$	41	25,6
Maior que $1,0 \times 10^7$	19	11,9
Total	160	100

Ao ser obtido em condições higiênicas inadequadas, o leite apresentará elevada carga bacteriana, que associada à demora no processo de refrigeração e às condições climáticas observadas na região Nordeste resultam em números (UFC/mL) como os observados neste trabalho. Quando a carga microbiana inicial do leite é elevada, os processos de beneficiamento e industrialização, geralmente, não são eficientes para a destruição dos microrganismos deteriorantes, e até mesmo dos microrganismos patogênicos (Feniman et al., 2006). Desta forma, o leite produzido em várias propriedades, invariavelmente, resultaria em derivados lácteos de qualidade insatisfatória, condição incompatível com o anseio de sustentabilidade da caprinocultura leiteira no Cariri Paraibano.

Contagem de coliformes a 35 °C

A contagem de coliformes a 35°C variou de $1,6 \times 10^4$ a $2,1 \times 10^7$, com média de $6,7 \times 10^5$ UFC/mL. Para *E. coli* os valores variaram de 0 a $3,5 \times 10^3$ com valor médio de $8,8 \times 10$ UFC/mL. Em estudo realizado em sistemas de produção de leite caprino no Sul do Brasil, Gottardi et al. (2008) verificaram que as contagens de coliformes a 35 °C variaram entre 0 e $1,4 \times 10^6$, valores menores que os observados neste estudo, fato que seria esperado por ser tratar de sistemas de produção mais desenvolvidos e tecnificados, além disso, as condições climáticas observadas na região Sul do Brasil são menos favoráveis ao desenvolvimento microbiano.

Os dados revelam que apenas 27 (16,9%) propriedades apresentaram contagem de coliformes a 35 °C menor ou igual a $1,0 \times 10^3$ UFC/mL (Tabela 2). Embora a legislação brasileira não estabeleça limites para coliformes em leite cru, os dados verificados são de grande importância, pois indicam falhas na obtenção e transporte do leite. Quando o número de coliformes atinge valores acima de $1,0 \times 10^3$ UFC/mL é indicativo de falhas na higiene de produção (Murphy, 1997), no transporte e armazenamento do leite ou em ambos. Contagem de coliformes a 35°C acima de $1,0 \times 10^3$ UFC/mL foi observada em 133 (83%) propriedades.

A avaliação do Coeficiente de Spearman indicou existir correlação positiva entre CPP e coliformes a 35°C ($r=0,681/P<0,01$). Em estudo realizado na mesma microrregião que o presente, no entanto, em sistemas de produção de leite bovino, Oliveira et al. (2011) verificaram elevados coeficientes de correlação entre CCP e

coliformes a 35 e 44,5 °C. Estes achados sugerem que a CPP pode ser utilizada como indicador único das condições higiênico-sanitárias de obtenção do leite, estando a IN 37 bem subsidiada em não estabelecer limites para coliformes.

Tabela 2 – Distribuição das propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano em função dos níveis de contaminação do leite *in natura* por coliformes a 35 °C (UFC/mL).

Níveis de contaminação por coliformes a 35 °C (UFC/mL)	Número de propriedades	Valor percentual (%)
Até $1,0 \times 10^3$	27	16,9
Maior que $1,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^5$	84	52,5
Maior que $1,0 \times 10^5$ a $1,0 \times 10^6$	33	20,6
Maior que $1,0 \times 10^6$	16	10,0
Total	160	100

Contagem de *Staphylococcus spp.* e *Staphylococcus aureus*

Os valores de contagem para *Staphylococcus spp.* variaram entre 0 e $3,1 \times 10^7$, com valor médio de $1,2 \times 10^6$. A avaliação do Coeficiente de Spearman indicou existir correlação positiva entre contagem de *Staphylococcus spp.* e CPP ($r=0,661/p<0,01$).

Tabela 3 – Distribuição das propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano em função dos níveis de contaminação do leite *in natura* por *Staphylococcus spp.* (UFC/mL).

Níveis de contaminação por <i>Staphylococcus spp.</i> (UFC/mL)	Número de propriedades	Valor percentual (%)
Até $1,0 \times 10^3$	22	13,8
Maior que $1,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^5$	72	45,0
Maior que $1,0 \times 10^5$ a $1,0 \times 10^6$	47	29,3
Maior que $1,0 \times 10^6$	19	11,9
Total	160	100

Apenas 22 (13,8%) propriedades apresentaram enumeração de *Staphylococcus spp.* igual ou inferior a $1,0 \times 10^3$, merecendo destaque também o número de propriedades que apresentaram contagens superiores a $1,0 \times 10^5$ (66, 41,2%) (Tabela 3). Em 6 (3,8%) propriedades os valores chegaram ao $\log 10^7$. Diferente dos microrganismos mesófilos e dos coliformes, que são utilizados como indicadores das condições higiênicas de obtenção e manipulação do leite, os *Staphylococcus* apresentam importância em razão do elevado poder patogênico observado para algumas espécies. A capacidade de produzir toxinas é um dos mais preocupantes fatores de virulência associado aos *Staphylococcus*, sendo objeto de estudo em diversos trabalhos com leite caprino.

No leite de 9 (5,6%) propriedades avaliadas, verificou-se o isolamento de *Staphylococcus aureus*. Apesar de se tratar de leite cru, a presença desta bactéria não pode ser negligenciada, pois há risco de produção de enterotoxinas resistentes à pasteurização caso o leite não seja mantido em temperatura inferior a $7,2^\circ\text{C}$. A concentração de enterotoxina capaz de causar sintomas de toxinfecção alimentar pode ocorrer quando o número de *S. aureus* excede 10^5 UFC/mL (FDA, 1992). Contagens de *S. aureus* superiores a 10^5 foram observadas em 2 (2,1%) das propriedades estudadas.

A porcentagem de isolamento de *S. aureus* (5,6%) pode ser considerada baixa em relação ao isolamento de *Staphylococcus spp.* (97,5%), os quais eram compostos basicamente por estafilococos coagulase negativa (SCN). Em estudos realizados na Itália por Foschino et al. (2002) e na Suíça por Muehlher et al. (2003) *S. aureus* foram isolados em 43 e 31,7% das amostras, respectivamente. Entretanto, em se tratando de sistemas de produção de leite caprino nossos resultados condizem com aqueles observados em diversas investigações relativas à etiologia da mastite (Gebrewahid et al., 2012; Neves et al., 2010; Peixoto et al., 2010, Langoni et al., 2006; Bergonier et al., 2003) as quais apontam os SCN como os principais causadores da mastite na espécie caprina.

Detecção de Salmonella enterica

Quanto à presença de *Salmonella enterica*, detectou-se o patógeno no leite de duas propriedades (1,3%). A legislação (IN37) não estabelece padrões para este microrganismo em leite cru, no entanto, preconiza ausência dessa bactéria em leite

pasteurizado, esterilizado e UHT. A presença de *Salmonella enterica* no leite cru indica problemas relacionados à higiene de ordenha, uma vez que tal microrganismo tem como habitat natural o trato digestivo animal e é eliminada frequentemente nas fezes dos animais de produção, podendo chegar a contaminar o leite em condições inadequadas de higiene na ordenha.

Contagem total e diferencial de células somáticas

A contagem total de células somáticas (CCS) variou de $2,3 \times 10^5$ a $1,1 \times 10^7$ com média de $2,2 \times 10^6$ células/mL. Os valores de CCS observados foram altos quando comparados aos achados de outros autores. Estudos com cabras sem sinais de mastite clínica realizados no Brasil por Arcuri et al. (2004) e nos Estados Unidos por Zeng et al. (1999), utilizando a técnica de microscopia direta e coloração de verde de metil e pironina-Y, a mesma utilizada no presente estudo, encontraram valor médio para CCS de $5,6 \times 10^5$ e $6,1 \times 10^5$ células/mL, respectivamente.

Como pode ser observado (Tabela 4) apenas 20 (15,9%) propriedades apresentaram CCS menor ou igual a $1,0 \times 10^6$, com predominância de propriedades apresentando contagens entre $1,0 \times 10^6$ e $2,0 \times 10^6$ (Tabela 4). A legislação brasileira não estabelece limites para CCS em leite caprino, possivelmente devido à inexistência na literatura local, de um consenso sobre um limiar que diferencie animais mastíticos de animais sadios. Da mesma forma, a União Europeia não estabelece padrões para CCS em leite caprino. Nos Estados Unidos o limite é de $1,0 \times 10^6$ cel./mL (Paape et al., 2007). Adotando o critério americano, 106 (84,1%) propriedades estariam produzindo leite fora dos padrões, no entanto, devido à carência de estudos conclusivos relacionados à citologia do leite para a espécie caprina na literatura brasileira, acreditamos não ser prudente utilizar a CCS total como parâmetro de classificação do leite.

Tabela 4- Distribuição das propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano em função dos intervalos de CCS do leite *in natura*. (cél./mL).

Intervalos de contagem de células somáticas (células/mL)	Número de propriedades	Valor percentual (%)
Até $1,0 \times 10^6$	20	15,9
Maior que $1,0 \times 10^6$ a $2,0 \times 10^6$	56	44,4
Maior que $2,0 \times 10^6$ a $4,0 \times 10^6$	37	29,4
Maior que $4,0 \times 10^6$	13	10,3
Total	126	100

Não foi observada correlação entre CCS e contagem de *Staphylococcus spp.* Estudos anteriores (Peixoto et al., 2010; Bagnicka et al., 2011) indicaram existir uma fraca associação entre isolamento bacteriano e os métodos indiretos de diagnóstico da mastite subclínica (*Califórnia Mastitis Test* e contagem de células somáticas). Estes resultados podem ser justificados pela multicausalidade associada à elevação da CCS na espécie caprina. De acordo com Paape et al. (2007), outros fatores além da infecção intramamária, tais como as práticas de manejo, estágio de lactação, número de partos e a artrite encefalite caprina (CAE) contribuem na elevação da CCS em cabras. Outro fator bastante significativo é a secreção de corpúsculos resultantes do desprendimento das células do epitélio de revestimento dos alvéolos (Paape et al., 2001), apesar da maioria dos corpúsculos citoplasmáticos serem anucleados, muitos deles desprendem-se juntamente com seu núcleo, e por serem semelhantes no tamanho e morfologia aos leucócitos, podem ser confundidos com células somáticas (Gomes et al., 2002; Gomes et al., 2006). Em estudo realizado por Wilson et al. (1995) foi verificado que aproximadamente 90% na variação na CCS está relacionado a causas não mastíticas, informação que respalda a falta de correlação observada em nosso estudo.

No tocante à contagem diferencial dos tipos celulares no leite caprino produzido em propriedades do Cariri Paraibano, foi verificado que todos os tipos celulares apresentaram valores médios elevados (Tabela 5). Se tivéssemos tratando de CCS em vacas, as contagens médias observadas para leucócitos mononucleares e neutrófilos, individualmente, já sugeririam a presença de mastite, no entanto, como estamos tratando

com cabras leiteiras não podemos fazer tal inferência. A contagem total de células somáticas em cabras livres de mastite é maior que em vacas ou ovelhas também sadias (Paape et al., 2007), sendo esta afirmação, conseqüentemente, válida também para os tipos celulares avaliados individualmente.

Os neutrófilos foram o tipo celular predominante (56,9%) nas amostras de leite caprino (Tabela 5). Diferentemente do observado no leite de vacas e ovelhas, os neutrófilos compreendem o tipo celular mais comum no leite de cabras mastíticas ou sadias (Dulin et al., 1983), informação que corrobora os achados do presente estudo. Estas células pertencem ao grupo dos leucócitos polimorfonucleares ou granulócitos, sendo o tipo celular absolutamente predominante deste grupo. São ainda, o tipo celular mais comum entre todas as células de defesa (Junqueira e Carneiro, 2004). A migração de neutrófilos para o tecido mamário representa a primeira linha de defesa imunológica contra bactérias que penetram a barreira física do canal do teto (Paape e Capuco, 1997), outro motivo que justifica a predominância deste tipo celular nas amostras de leite caprino avaliadas. De acordo com Paape et al. (2001) os neutrófilos representaram de 45 a 74% das células somáticas em meios mamários não mastíticos, e de 71 a 86% das células em meios mamários mastíticos. Por outro lado, Madureira e Gomes (2010), trabalhando com cabras sadias em rebanhos no Estado de São Paulo, verificaram que os neutrófilos representaram, em média, 73,2% do total de células somáticas, valores superiores ao observados neste estudo. Ao avaliar os valores relativos individuais verifica-se que 35 (27,8%) propriedades apresentaram leite com contagem de neutrófilos acima de 70,0% do total de células somáticas.

Tabela 5 - Contagem diferencial dos tipos celulares avaliados no leite caprino produzido em propriedades do Cariri Paraibano.

Tipos celulares	Mínimo	Máximo	Média	Valores relativos
	----- Células/mL -----			----- % -----
Neutrófilos	$4,8 \times 10^4$	$1,0 \times 10^7$	$1,4 \times 10^6$	56,9±20,6
Leucócitos mononucleares	$1,4 \times 10^5$	$2,2 \times 10^6$	$7,5 \times 10^5$	40,7±19,8
Células descamativas	0	$1,4 \times 10^5$	$4,4 \times 10^4$	2,4±2,5

Os leucócitos mononucleares foram o segundo tipo celular mais comum (40,7%) (Tabela 5). Estas células pertencem ao grupo dos agranulócitos, que é composto pelos linfócitos e monócitos, e representam o segundo grupo celular mais numeroso entre as células de defesa (Junqueira e Carneiro, 2004).

Em animais mastíticos, o percentual de neutrófilos é maior que o observado em animais não mastíticos, conseqüentemente, o inverso é verdadeiro para os leucócitos mononucleares (Paape et al., 2001). Diante deste fato, realizamos uma análise de correlação entre contagem de neutrófilos e de leucócitos mononucleares com a contagem de *Staphylococcus spp.*, esperando obter uma correlação positiva para os neutrófilos e negativa para os mononucleares. No entanto, ao avaliarmos o Coeficiente de Spearman isto não ocorreu, possivelmente, por estarmos trabalhando com leite de conjunto (mix de todos os animais da propriedade) e ainda, os valores observados para *Staphylococcus spp.* podem estar relacionados a contaminações pós-ordenha, já que o ambiente de ordenha, quando mal higienizado, é propício à multiplicação dos estafilococos.

As células descamativas representam em média 2,4% do total de células somáticas (Tabela 5). De acordo com Paape et al. (2001), estas células representam uma pequena porção do conteúdo total de células no leite caprino (1 a 6%) e sua identificação é complexa devido à presença de partículas citoplasmáticas. No presente estudo esta dificuldade foi minimizada devido a utilização da coloração com verde de metila e pironina-Y, corante específico para células nucleadas.

Fatores de risco associados à qualidade do leite caprino

Os resultados das análises univariadas realizadas para selecionar variáveis associadas à variação na CPP e CCS, candidatas ao modelo final de regressão logística, podem ser verificados nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

As variáveis relacionadas à caracterização dos proprietários e das propriedades associadas a variações na CPP foram: proprietários com outras atividades (P=0,029), existência de aprisco (P=0,169), conservação das instalações (P=0,031), utilização de água de poço artesiano (P=0,013), tratamento da água (P=0,194), período médio de lactação das cabras (P=0,033), critério de secagem (P=0,009), fornecimento de concentrado por nível de produção (P=0,002), fornecimento de concentrado apenas na

ordenha (P=0,093), satisfação com a caprinocultura leiteira (P=0,179) e pretensão de expansão do negócio (P=0,089).

Relativamente as variáveis relacionadas aos procedimentos de ordenha, praticamente todas as variáveis integrantes das “Boas Práticas na Ordenha” e conhecidamente influentes na qualidade microbiológica do leite estiveram associadas a variações na CPP (Tabela 6): realização de limpeza da sala antes da ordenha (P=0,085), eliminação dos primeiros jatos de leite (P=0,000), lavagem dos tetos antes da ordenha (P=0,023), realização do *pré-dipping* (P=0,000), tipo de coador utilizado (P=0,005), forma de armazenamento do leite na propriedade (P=0,103), existência de casos de mastite (P=0,000), manejo das cabras em lactação separado do resto do rebanho (P=0,039) e realização de linha de ordenha (P=0,000).

Em relação às variáveis apontadas pela análise univariada como associadas à variação na CCS (Tabela 7), pode ser verificado que a maioria está relacionada ao perfil dos proprietários e à caracterização das propriedades: idade do proprietário (P=0,068), tempo na atividade leiteira (P=0,079), escolaridade do proprietário (P=0,199), renda obtida com a caprinocultura (P=0,147), utilização de água obtida em açude próprio (P=0,046), criação apenas de cabras (P=0,117), número de cabras em lactação (P=0,173) e volume de produção de leite da propriedade (P=0,048). As demais variáveis apontadas estão relacionadas aos procedimentos de ordenha: duração média da lactação (P=0,109), critério adotado na secagem das cabras (P=0,059), fornecimento de alimento concentrado apenas na ordenha (P=0,130), eliminação dos primeiros jatos de leite (P=0,172) e realização do *pré-dipping* (P=0,079).

Tabela 6 – Associações incondicionais ($P < 0,2$) entre as variáveis independentes (caracterização e manejo das propriedades) e a contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios em 160 propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano.

Variáveis	Categorias	Propriedades n(%)	P
Proprietário tem outras atividades	Sim	82 (51,3)	0,029
	Não	78 (48,8)	
Possui aprisco	Sim	22 (13,8)	0,169
	Não	138 (86,3)	
Estado de conservação das instalações	Adequado	43 (26,9)	0,031
	Inadequado	117 (73,1)	
Utiliza água de poço artesiano	Sim	61 (38,1)	0,013
	Não	99 (61,9)	
Realiza tratamento da água	Sim	91 (56,9)	0,194
	Não	69 (43,1)	
Período médio de lactação (dias)	≤210	131 (81,9)	0,033
	>210	29 (18,1)	
Critério de secagem das cabras	Produção	75 (46,9)	0,009
	Prev. Parto	85 (53,1)	
Fornece concentrado por produção	Sim	84 (52,5)	0,002
	Não	76 (47,5)	
Fornece concentrado apenas na ordenha	Sim	105 (65,6)	0,093
	Não	55 (34,4)	
Está satisfeito com a caprinocultura	Sim	142 (88,8)	0,179
	Não	18 (11,3)	
Pretende expandir o negócio	Sim	103 (64,4)	0,089
	Não	57 (35,6)	
Realiza limpeza da sala antes de ordenha	Sim	51 (31,9)	0,085
	Não	109 (68,1)	
Elimina os primeiros jatos de leite	Sim	58 (36,3)	0,000
	Não	102 (63,8)	
Lava os tetos antes da ordenha	Sim	37 (23,1)	0,023
	Não	123 (76,9)	
Realiza <i>pré-dipping</i>	Sim	123 (76,9)	0,006
	Não	37 (23,1)	
Enxuga os tetos com toalhas de papel	Sim	151 (94,4)	0,067
	Não	09 (5,6)	
Realiza <i>pós-dipping</i>	Sim	114 (71,3)	0,000
	Não	45 (28,1)	
Tipo de coador utilizado	Plástico	38 (23,8)	0,005
	Tecido	122 (76,3)	
Armazenamento do leite na propriedade	Tanque resfr.	09 (5,6)	0,103
	Latão	151 (94,4)	
Tem ou teve casos de mastite	Sim	53 (33,1)	0,000
	Não	107 (66,9)	
Cabras em lactação separadas das demais	Sim	60 (37,5)	0,039
	Não	100 (62,5)	
Realiza linha de ordenha	Sim	112 (70,0)	0,000
	Não	48 (30,0)	

Tabela 7 - Associações incondicionais ($P < 0,2$) entre as variáveis independentes (caracterização e manejo das propriedades) e a contagem de células somáticas em 126 propriedades produtoras de leite caprino do Cariri Paraibano.

Variáveis	Categorias	Propriedades n (%)	P
Idade do proprietário (anos)	≤47	94 (74,6)	0,068
	>47	32 (25,4)	
Tempo na atividade leiteira (anos)	≤7	95 (75,4)	0,079
	>7	31 (24,6)	
Proprietário alfabetizado	Sim	117 (92,9)	0,199
	Não	09 (7,1)	
Renda com a caprinocultura (R\$)	≤600,00	102 (81,0)	0,147
	>600,0	24 (19,0)	
Utiliza água de açude próprio	Sim	51 (40,5)	0,046
	Não	75 (59,5)	
Cria apenas cabras	Sim	75 (59,5)	0,117
	Não	51,0 (40,5)	
Nº de cabras em lactação	≤20	101 (80,2)	0,173
	>20	25 (19,8)	
Produção da propriedade (litros/dia)	≤25	92 (73,0)	0,048
	>25	34 (27,0)	
Duração média da lactação (dias)	≤210	105 (83,3)	0,109
	>210	21 (16,7)	
Critério de secagem das cabras	↓Produção	65 (51,6)	0,059
	Prev. Part0	61 (48,4)	
Fornece concentrado apenas na ordenha	Sim	91 (72,2)	0,130
	Não	35 (27,8)	
Elimina os primeiros jatos de leite	Sim	48 (38,1)	0,172
	Não	78 (61,9)	
Realiza <i>pré-dipping</i>	Sim	103 (81,7)	0,079
	Não	23 (18,3)	

De acordo com o modelo de regressão, a realização do *pré-dipping*, a eliminação dos primeiros jatos de leite e a inexistência de casos de mastite nos rebanhos estiveram associados ($P < 0,05$) com CPP menor ou igual a $5,0 \times 10^5$ UFC/mL (Tabela 8).

Todos os fatores apontados como responsáveis pela redução na CPP apresentam elevada coerência biológica e plausibilidade científica. Propriedades que não adotavam em sua rotina de ordenha a prática do *pré-dipping* apresentaram mais chances de produzir leite com CPP acima $5,0 \times 10^5$ UFC/mL (OR=2,8). Da mesma forma, a não eliminação dos primeiros jatos de leite (OR=3,9) esteve associada com CPP mais elevada. Além de outros, os procedimentos de ordenha apontados no presente estudo são amplamente enfatizados nos programas de “Boas Práticas de Ordenha”. É

comprovado cientificamente que a eliminação dos primeiros jatos de leite, além de servir como diagnóstico da mastite clínica exerce importante papel na redução da CPP, já que estes apresentam elevadas cargas bacterianas mesmo em animais livres de mastite. De forma complementar, a desinfecção dos tetos com solução antisséptica contribuiu para a redução da CPP, neste caso devido à eliminação da carga microbiana que o animal adquiriu desde a última ordenha. Em estudo realizado no Rio Grande do Norte, em sistemas de produção de leite caprino semelhantes aos do presente trabalho, Gracindo et al. (2011) verificaram forte associação entre higienização do animal antes da ordenha e elevação da CPP, corroborando os achados do presente estudo. Trabalhando com sistemas de produção de leite caprino e ovino na Suíça, Zweifel et al. (2005) verificaram que a contagem bacteriana foi influenciada por outros fatores (mês de colheita, número de ordenhas contidas no tanque de refrigeração, técnica de ordenha e tamanho do rebanho), resultados que diferem dos nossos, possivelmente, devido à maior tecnificação da atividade leiteira de pequenos ruminantes no referido país.

A existência atual ou passada de casos de mastite mostrou-se associada (OR=0,258) à CPP maior que $5,0 \times 10^5$ UFC/mL. Meios mamários mastíticos são grandes eliminadores de microrganismos no leite, fato que contribui para elevação na CPP no leite de conjunto. Taufik et al. (2008) verificaram que as infecções intramamárias são um fator de risco para elevação da contagem de *Staphylococcus spp.* no leite de cabras.

O modelo de regressão logística apontou os seguintes fatores associados à redução da CCS ($\leq 1,0 \times 10^6$ cel./mL): tempo na atividade menor ou igual a sete anos, não utilização de água de açudes, produção total da propriedade maior que 25 kg/leite/dia, duração de lactação menor ou igual a 210 dias, secagem das cabras por redução na produção e eliminação dos primeiros jatos de leite (Tabela 8). Como pode ser verificado, nem todas as variáveis associadas à redução da CCS apresentaram coerência biológica clara como foi observado para aquelas associadas à redução da CPP, no entanto, algumas inferências permitem ser feitas.

Proprietários com tempo na atividade menor ou igual a sete anos foram associados (OR=3,4) à produção de leite com CCS mais baixa. Ao avaliarmos a caprinocultura leiteira no Cariri Paraibano, verifica-se que muitos jovens entraram na atividade há poucos anos ou assumiram a atividade dos seus pais, e nestes jovens percebemos um

maior cuidado e comprometimento com a qualidade do leite, fato que pode ter influência direta na redução da CCS.

Tabela 8 – Modelo final de regressão logística para variáveis associadas à contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios (n=160) e contagem de células somáticas (n=126) no leite caprino produzido em propriedades do Cariri Paraibano.

Variável	Coef β^1	E.P. β^2	OR ³	IC ⁴
Microrganismos mesófilos aeróbios				
<i>Pré-dipping</i>	-1,220	0,455	0,352	0,162-0,764
<i>Eliminação dos primeiros jatos</i>	-0,798	0,401	0,256	0,127-0,515
<i>Existência de casos de mastite</i>	1,476	0,404	3,873	1,914-7,841
<i>Intercepto</i>	-0,102	0,430	--	--
Contagem de células somáticas				
<i>Tempo na atividade ≤ 7 anos</i>	-1,657	0,891	0,295	0,064-1,352
<i>Não utilização de água de açudes</i>	-2,365	0,780	0,388	0,146-1,032
<i>Produção total ≤ 25 kg de leite/dia</i>	1,603	0,669	2,651	0,986-7,124
<i>Duração da Lactação ≤ 210 dias</i>	-2,851	1,326	0,226	0,029-1,792
<i>Secagem por redução na produção</i>	-1,195	0,627	0,397	0,142-1,113
<i>Eliminação dos primeiros jatos</i>	-2,031	0,814	0,559	0,213-1,463
<i>Intercepto</i>	1,242	0,908	--	--

¹ Coeficiente β ;

² Erro padrão do coeficiente β ;

³ Odds Ratio;

⁴ Intervalo de confiança da Odds Ratio.

A não utilização da água de açudes próprios mostrou-se associada (OR=2,6) à CCS mais baixa. A baixa qualidade microbiológica da água dos pequenos açudes ou barragens existentes nas pequenas propriedades rurais é um fato conhecido. Muitas vezes, devido à proximidade de currais ou esterqueiras, escoam para dentro dos açudes e barragens, dejetos dos próprios animais, podendo a água destes reservatórios veicular patógenos mastíticos, fato que pode contribuir com a elevação da CCS.

A produção total da propriedade mostrou-se associada (OR=0,38) à CCS mais baixa. Propriedades com produção superior a 25 kg/leite/dia tiveram maior probabilidade de produzir leite com CCS abaixo de $1,0 \times 10^6$ cel./mL. Este fato pode estar associado à maior tecnificação e cuidados nas propriedades que produzem um volume maior de leite. Apesar da variável número de cabras em lactação não ter sido apontada pelo modelo de regressão, ela foi significativa na análise univariada, sugerindo possível associação entre número de animais e CCS. Outra possível causa seria o efeito diluidor, onde uma produção total maior poderia diluir a produção de animais com valores altos de CCS.

A duração da lactação esteve associada (OR=4,419) à diminuição na CCS. Propriedades que realizavam a secagem das cabras por volta dos 210 dias apresentaram maiores probabilidades de produzir leite com CCS abaixo de $1,0 \times 10^6$ cel./mL. Estes achados são respaldados por diversos estudos que têm demonstrado o aumento na CCS ao longo da lactação (Wilson et al., 1995; Moroni et al., 2005; Paape et al., 2007), sendo a variação atribuída ao aumento dos casos de mastite e também a fatores não infecciosos relacionados à fisiologia do próprio animal.

O critério adotado na secagem dos animais foi outra variável associada (OR=2,516) a CCS mais baixa. Nas propriedades em que o critério adotado era a redução na produção e não a proximidade do parto verificou-se maiores probabilidades de obter-se leite com CCS abaixo de $1,0 \times 10^6$ cel./mL. Sugerimos que este fato possa estar relacionado aos grandes intervalos entre partos, comum em pequenas explorações leiteiras na região Nordeste. Neste sentido, quando realiza-se a secagem pelo critério de proximidade do parto as lactações podem ficar muito extensas, caindo na questão discutida na variável anterior (duração da lactação).

A eliminação dos primeiros jatos de leite mostrou-se associada (OR=1,789) com CCS abaixo de $1,0 \times 10^6$ cel./mL. É clara e direta a relação entre eliminação dos

primeiros jatos e CCS: se a mastite não é diagnosticada (pelo teste da caneca telada) esta não será tratada e poderá refletir em aumentos substanciais na CCS, fato identificado pelo modelo de regressão logística.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização microbiológica e celular do leite caprino obtida com este estudo revela que estão ocorrendo falhas relacionadas aos procedimentos de ordenha. Aproximadamente 50% das propriedades não atendem ao padrão microbiológico estabelecido pela legislação brasileira. No entanto, os principais gargalos relativos à qualidade do leite na região em estudo foram aqui apontados. A realização do teste da caneca telada é um procedimento de ordenha que deve ser insistentemente enfatizado, já que, além de mostrar-se associado à redução na carga bacteriana, a eliminação dos primeiros jatos de leite mostrou-se associada à redução da contagem de células somáticas. Os fatores de risco apresentados devem ser observados e implementados em programas de melhoria da qualidade do leite no leite caprino produzido no Cariri Paraibano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Committee on microbiological methods for foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** Washington: American Public Health Association, 1999, 701p.
- ANDREWS W.H.; T. HAMMACK. **Bacteriological Analytical Manual (BAM), Chapter 5 – Salmonella.** 8th ed. Food and Drug Administration (FDA), EUA, 1998.
- ARCURI, E.F.; DA SILVA, P.D.L.; BRITO, J.R.F. et al. Emprego do Somacount 300, calibrado com leite de vaca, na contagem de células somáticas no leite de cabra. **Ciência Rural**, v.34, n.5, p.1497-1500, 2004.
- BAGNICKA, E.; WINNICKA, A.; JOZWIK, A. et al. Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.100, p.72-77, 2011.
- BELTRÃO FILHO, E.M.; COSTA, R.G.; QUEIROGA, R.C.R.E. et al. Avaliação higiênico-sanitária do leite de cabra comercializado no estado da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.4, p. 672-679, 2008.
- BENNETT, R.W.; LANCETTE, G.A. **Bacteriological Analytical Manual (BAM), Chapter 12 – Staphylococcus.** 8th ed. Food and Drug Administration (FDA), EUA, 1998.
- BERGONIER, D.; DE CRÉMOUX, R.; RUPP R. et al. Mastitis of dairy small ruminant. **Veterinary Reserch**, v.34, p.689-716, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite de cabra. Diário Oficial da União*, Brasília, p.23, 8 de nov. de 2000.
- DULIN, A.M.; PAAPE, M.J.; SCHULTZE, W.D.; WEINLAND, B.T. Effect of parity, stage of lactation, and cytoplasmic particles in goat milk. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.11, p.2426-2433, 1983.
- FENIMAN, C.M.; PASINI, G.; MUCELIN, C.A. Avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo “C”, comercializado no município de medianeira, PR. **Higiene Alimentar**, v.17, n.10, p.77-86, 2006.

- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins. **Center for Food Safety and Applied Nutrition**. Rockville, Maryland, p. 12-16, 1992.
- FOSCHINO, R.; INVERNIZZI, A.; BARUCCO, R.; STRADIOTTO, K. Microbial composition including the incidence of pathogens of goat milk from bergamo region of Italy during lactation year. **Journal of Dairy Research**, v.69, n.2, p.213-225, 2002.
- GEBREWAHID, T.T.; ABERA, B.H.; MENGHISTU, H.T. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in small ruminants os Tigray Regional State, North Ethiopia. **Veterinary World**, v.5, n.2, p.103-109, 2012.
- GOMES, V.; DELLA LIBERA, A. M. M. P.; MADUREIRA, K. M.; ARAÚJO, W. P. Effect of the stage of lactation on somatic cell counts in healthy goats (*Caprae hircus*) breed in Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 64, p.30-34, 2006.
- GOMES, V.; DELLA LIBERA, A. M.M.P.; GARCIA, M. et al. Contagem de células somáticas no leite de caprinos. **A Hora Veterinária**, v.22, p.45-47, 2002.
- GOTTARDI, C.P.T.; MURICY, R.F.; CARDOSO, M.; SCHMIDT, V. Qualidade higiênica de leite caprino por contagem de coliformes e estafilococos. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.743-748, 2008.
- GRACINDO, A.P.A.C.; LARA, I.A.R.; FAÇANHA, D.A.E.; PEREIRA, G.F. Estudo do relacionamento do número de bactérias no leite caprino com práticas de higiene via modelos lineares generalizados. **Revista Brasileira de Biometria**, v.29, n.4, p.688-698, 2011.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 488p.
- LANGONI H.; DOMINGUES P.F.; BALDINI S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.13, n.1, p.51-54, 2006.
- MADUREIRA, K.M.; GOMES, V. Contagem total e diferencial dos leucócitos presentes no leite de cabras sadias utilizando-se a coloração de verde de metil e pironina e a citocentrifugação. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.2, p.343-347, 2010.

- MORONI, P.; PISONI, G.; RUFFO, G.; BOETTCHER, P.J. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. **Preventive Veterinary Medicine**, v.69, p.163-173, 2005.
- MUEHLHER, J.E.; ZWEIFEL, C.; CORTI, S. et al. Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.12, p.3849-3856, 2003.
- MURPHY, S. Raw milk bacteria tests: standard plate count, preliminary incubation counts, lab pasteurized count, and coliform count. What do they mean for your farm? In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL REGIONAL MEETING, Syracuse. **Proceedings...** Syracuse, p.34-42., 1997.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL (NMC). Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. **Natl. Mastitis Council Inc.**, Madison, WI, 1999.
- NEVES, P.B.; MEDEIROS, E.S.; SÁ, V.V. et al. Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.5, p.379-384, 2010.
- OLIVEIRA, C.J.B.; LOPES JUNIOR, W.D.; QUEIROGA, R.C.R.E. et al. Risk factors associated with selected indicators of milk quality in semiarid northeastern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.3166–3175, 2011.
- PAAPE, M.J e CAPUCO, A.V. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. **Journal of Animal Science**, v.75, n.5, p.556-565, 1997.
- PAAPE, M.J.; POUTREL, B.; CONTRERAS, A. et al. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.E. Suppl, p. E237-E244, 2001.
- PAAPE, M.J.; WIGGANS, G.R.; BANNERMAN, D.D. et al. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. **Small Ruminant Research**, v.68, n.4, p.114-125, 2007.
- PEIXOTO, R.M.; FRANÇA, C.A.; SOUZA JÚNIOR, A.F. et al. Etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos da mastite caprina em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.9, p.735-740, 2010.
- PRESCOTT, S.C.; BREED, R.S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. **Journal of Infection Disease**, v.7, p.632-640, 1910.

- TAUFIK, E.; HILDEBRANDT, G.; KLEER, J.N. et al. Contamination level of *Staphylococcus spp.* I raw goat milk and associated risk factors. **Media Peternakan**, v.31, n.3, p.155-165, 2008.
- WILSON, D.J.; STEWART, K.N.; SEARS, P.M. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.16, p.165-169, 1995.
- ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N.; HART, S.P. et al. Comparative study of the effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.31, p.103-107, 1999.
- ZWEIFEL, C.; MUEHLHERR, J.E.; RING, M.; STEPHAN, R. Influence of different factors in milk production on standard plate count of raw small ruminant's bulk-tank milk in Switzerland. . **Small Ruminant Research**, v.58, p.63-70, 2005.

CAPÍTULO III

Diagnóstico, Etiologia e Resistência Antimicrobiana das Infecções Intramamárias em Cabras Leiteiras

Diagnóstico, Etiologia e Resistência Antimicrobiana das Infecções Intramamárias em Cabras Leiteiras

RESUMO

Objetivou-se avaliar a etiologia, perfil de sensibilidade e concentração inibitória mínima (CIM) dos antimicrobianos e, ainda, avaliar as ferramentas de diagnóstico indireto da mastite em caprinos leiteiros na região do Cariri Paraibano. Foram visitadas 31 propriedades, onde foram colhidas amostras de leite de 290 animais. Antes da colheita realizou-se o teste da caneca telada e o *California Mastitis Test* (CMT). As amostras foram cultivadas e os microrganismos isolados foram identificados e submetidos a avaliação da susceptibilidade pelo teste de disco-difusão e CIM. Os dados foram submetidos à estatística descritiva. Para testar a concordância entre o isolamento microbiológico e as avaliações citológicas (CMT e CCS), utilizou-se o índice *Kappa*. A prevalência da mastite clínica foi de 0,7%. A avaliação da mastite subclínica pelo CMT revelou que 25% dos animais apresentaram positividade ao teste. A análise de concordância entre CMT e isolamento microbiológico revelou pobres concordâncias, com valores de 28 e 21% para os escores $\geq 1+$ e $\geq 2+$, respectivamente, e índice *Kappa* de 0,20. A CCS variou de $7,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^7$, com média de $1,4 \times 10^6$ cel/mL. A análise de concordância entre CCS e isolamento microbiológico relevou valores de 22 e 16% de concordância, com índice *Kappa* de 0,17 e 0,14 para CCS ≥ 1 e 1,5 milhão de cel/mL, respectivamente. Mediante isolamento microbiológico 14,8 dos animais e 19,3% dos meios mamários foram classificados como mastíticos. Os microrganismos mais prevalentes foram os *Staphylococcus* coagulase negativos (71,7%), principalmente *S. epidermidis* (34%). Os maiores índices de resistência observados pelo método de disco-difusão foram aos antimicrobianos penicilina (77%), ampicilina (75%) e tetraciclina (34%). O método de microdiluição em placas confirmou os resultados obtidos pelo método de disco-difusão, no entanto, mostrou-se mais eficaz na detecção de resistência para alguns antimicrobianos. Os resultados aqui apresentados revelam uma situação preocupante sob o aspecto da saúde pública e ressaltam a necessidade de implementação de programas de melhoria da qualidade do leite caprino.

Palavras-chave: caprinocultura leiteira, concentração inibitória mínima, mastite, *Staphylococcus*.

Diagnosis, Etiology and Antimicrobial Resistance of intramammary infections in Dairy Goats

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the etiology, susceptibility profile and minimal inhibitory concentrations of antimicrobials and also assess the diagnostic tools of indirect mastitis in herds of dairy goats in the region Cariri of Paraíba. To this were viewed 31 farms where samples were collected aseptically milk 290 animals. Before collection was performed the strip cup test and CMT. The samples were grown and isolated microorganisms were identified and subjected to evaluation of susceptibility testing by disk diffusion and MIC. Data were subjected to descriptive statistics. To test the correlation between the microbiological isolation and cytological evaluations (CMT and SCC), we used the Kappa index. The prevalence of clinical mastitis was 0.7%. The assessment of subclinical mastitis by CMT revealed that 25% of animals tested positive to the test. The analysis of correlation between CMT and microbiological isolation showed poor concordance with values of 28 and 21% for scores $\geq 1+$ and $\geq 2+$, respectively, and kappa index of 0.20. The SCC ranged from 7.0×10^3 to 1.0×10^7 , with a mean of 1.4×10^6 cells/mL. The analysis of agreement between SCC and microbiological isolation showed values 22 and 16% agreement, with Kappa index of 0.17 and 0.14 for $CCS \geq 1$ and 1.5 million cells/mL, respectively. Upon microbiological isolation of animals 14.8 and 19.3% of breast means were classified as mastíticos. The most prevalent organisms were coagulase negative *Staphylococcus* (71.7%), mainly *Streptococcus epidermis* (34%). The highest rates of resistance seen by the disk diffusion method were antimicrobial penicillin (77%), ampicillin (75%) and tetracycline (34%). The method of microdilution plates confirmed the results obtained by disk diffusion method, however, proved to be more effective in detecting resistance to certain antibiotics. The results presented here reveal a worrying situation from the standpoint of public health and underscore the need to implement programs to improve the quality of goat milk.

Key words: dairy goat, minimum inhibitory concentration, mastitis, *Staphylococcus*.

INTRODUÇÃO

A Região Nordeste apresenta grande potencialidade de produção de leite caprino, já que detém 91% do rebanho nacional, com destaque para o estado da Paraíba que é o maior produtor nacional do leite desta espécie. No entanto, a atividade não alavancou da forma que deveria, sendo atualmente dependente de programas sociais, a exemplo o “Programa do leite”, um programa de fomento subsidiado pelos governos federal e estadual. Para a atividade alcançar patamares mais elevados terá de inserir-se no mercado privado e para isso necessitará, entre outros fatores, de expressivas melhorias na qualidade higiênico-sanitária do leite e seus derivados.

Estudos realizados no estado da Paraíba apontam contagens bacterianas e de células somáticas elevadas (Neves et al., 2010; Oliveira et al., 2011), indicando a existência de deficiências no processo de ordenha e sugerindo que a mastite pode estar presente de forma bastante intensa nos rebanhos caprinos. Na região do Cariri Paraibano são escassos os estudos avaliando a etiologia e o perfil de resistência dos microrganismos causadores da mastite caprina aos antimicrobianos. Estudos realizados no semiárido nordestino têm verificado elevados percentuais de resistência a antibióticos comumente utilizados no tratamento das mastites (Peixoto et al., 2010a; Garino et al., 2011). Por outro lado, os tratamentos da mastite caprina são geralmente baseados nos sucessos obtidos em casos anteriores e, muitas vezes, tendo-se como referencial produtos e tratamentos realizados com bovinos.

O diagnóstico rápido e correto da mastite constitui ferramenta fundamental para redução dos índices da enfermidade, melhoria da qualidade do leite e seus derivados e promoção da saúde pública. O isolamento microbiológico é considerado padrão-ouro na identificação da mastite caprina (Contreras et al., 2007; Marogna et al., 2012), no entanto, por razões técnico-financeiras alguns métodos indiretos de identificação são realizados, sendo os principais a contagem de células somáticas (CCS) e o *California Mastitis Test* (CMT). Para a espécie bovina estes métodos estão bastante validados (Santos e Fonseca, 2007), de forma diferente, os estudos que avaliam estes métodos como ferramentas de diagnóstico da mastite caprina apresentam resultados bastante

controversos (McDougall et al., 2001; Tonin e Nader Filho, 2005; Peixoto et al., 2010a), sendo observados variados coeficientes de concordância da CCS e CMT entre si, e deles com o isolamento microbiológico.

Portanto, objetivou-se avaliar a etiologia, perfil de sensibilidade e concentração inibitória mínima dos antimicrobianos e, ainda, avaliar a eficácia das ferramentas de diagnóstico indireto da mastite em rebanhos de caprinos leiteiros na região do Cariri Paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram visitadas 31 propriedades de base familiar produtoras de leite caprino localizadas no município de Monteiro, pertencente à microrregião do Cariri Ocidental Paraibano, sendo colhidas amostras de 290 animais e 578 meios mamários, já que dois animais possuíam apenas um teto funcional. Antes das colheitas, os tetos foram previamente lavados, secos individualmente com papel toalha descartáveis e, após a realização da antissepsia com álcool iodado (2,5%), foram colhidas as amostras de leite em frascos estéreis. Para contagem de células somáticas as amostras foram colhidas em frascos contendo o conservante bronopol. Anteriormente às colheitas foram realizados o teste da caneca telada e o CMT.

Paralelamente às colheitas foi aplicado um questionário epidemiológico relacionado às práticas de ordenha adotadas em cada propriedade (Apêndice 3).

Por meio do teste da caneca telada avaliou-se a presença da mastite clínica mediante a observação de grumos, pus ou secreções sanguinolentas. O CMT foi realizado segundo metodologia descrita por Schalm et al. (1971) com modificações de interpretação sugeridas por Perrin et al. (1997). Resumidamente, 2 mL de leite foram misturados a 2 mL de reativo para CMT (CMT-Fatec[®], FATEC S.A., Brasil). Para simplificação da interpretação, os resultados foram classificados em apenas quatro escores: 0, reação negativa; 1+, traços; 2+, reação positiva; 3+, reação fortemente positiva. A CCS foi realizada eletronicamente (Bentley Combi 2300[®]) pelo método de citometria de fluxo.

Para o isolamento microbiológico as amostras foram semeadas em meio àgar sangue ovino 5% e àgar MacConkey, incubadas a 37° C em aerobiose, sendo realizadas leituras com 24 a 72 horas de incubação. Nos microrganismos isolados foi realizado

exame bacterioscópico pelo método de Gram e submetidos às provas iniciais de identificação (catalase e coagulase) (NMC, 1999). Posteriormente, a identificação dos microrganismos foi realizada utilizando-se painéis colorimétricos lidos em equipamento semiautomatizado (AutoScan 4[®], Siemens).

A avaliação da susceptibilidade antimicrobiana *in vitro* foi realizada por dois métodos: disco-difusão e microdiluição em placas. O último também realizado para a determinação da concentração inibitória mínima.

Foi realizada a avaliação da susceptibilidade antimicrobiana *in vitro*, através do método Kirby-Bauer (disco-difusão). Foram utilizados discos com os seguintes antimicrobianos: ampicilina (30 mcg), cefalexina (30 mcg), cefalotina (30 mcg), ceftiofur (30 mcg), cefotaxima (30 mcg), cloranfenicol (30 mcg), gentamicina (10 mcg), neomicina (30 mcg), norfloxacin (30 mcg), oxacilina (1 mcg), tetraciclina (30 mcg), penicilina G (10 UI), kanamicina (30 mcg), vancomicina (30 mcg) (CECON[®], São Paulo, Brasil). Os microrganismos foram semeados e as placas foram incubadas à 37° C/24h e então, feita leituras dos resultados através da medição dos halos de inibição formados por cada antimicrobiano, sendo comparados a padrões descritos pela CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006). Para o controle do teste, foi utilizada a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição em placas, com auxílio de equipamento semiautomatizado (Autoscan4[®], Siemens). Utilizou-se o painel Pos Combo 33 (PC 33), composto pelos seguintes antimicrobianos: ampicilina/sulbactam (8/4-16/8 µg/mL), ampicilina (2-8 µg/mL), amoxicilina (2-4 µg/mL), ceftriaxona (8-32 µg/mL), clindamicina (0.5-4 µg/mL), ciprofloxacina (1-2 µg/mL), eritromicina (0.5-4 µg/mL), gentamicina (4-8 µg/mL), sinercid (0.5-2 µg/mL), levofloxacina (1-4 µg/mL), oxacilina (0.25-2 µg/mL), penicilina (0.03, 0.12-0.25, 2, 8 µg/mL), trimetoprim/sulfametoxazol (0.5/9.5-2/38 µg/mL), tetraciclina (4-8 µg/mL), vancomicina (0.25-16 µg/mL). Como controle, foi utilizado *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Os resultados foram tabulados e submetidos à estatística descritiva, onde foi realizada distribuição de frequências e nas variáveis contínuas foram determinados valores mínimos, máximos e médios. Para testar a existência de concordância entre o isolamento microbiológico e as avaliações citológicas (CMT e CCS), foi realizada uma

análise de concordância pela determinação do índice *Kappa* (K). As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SPSS, versão 20.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As investigações realizadas por meios dos questionários apontaram dados interessantes e em alguns aspectos, diferentes dos observados em sistemas de produção localizados em outras regiões.

Observou-se que 24 (77%) proprietários ordenhavam seus animais em salas de ordenha. No entanto, apenas 12 (39%) propriedades apresentaram local de ordenha higienizado adequadamente. Adicionalmente, 16 (52%) ordenhadores mostraram-se inadequadamente aseados para o processo de ordenha.

Em relação às práticas de ordenha, verificou-se que a grande maioria dos proprietários (94%) realizava a prática de lavagem dos tetos antes da ordenha, uma prática muito recomendada no controle da mastite. Entretanto, quase metade destes (45%) não realizava esta prática com água clorada e, ainda, 48% dos proprietários utilizavam toalhas de pano comum a todos os animais na secagem dos tetos, um dado bastante preocupante, pois toalhas coletivas pode ser uma importante forma de veiculação de patógenos. As práticas de realização do teste da caneca, *pré-dipping* e *pós-dipping* não eram realizadas por 74%, 97% e 100% dos proprietários, respectivamente. Constatou-se ainda, que 30 (97%) produtores realizavam a linha de ordenha, no entanto, uma prática muito recomendada, a alimentação após a ordenha não era realizada em 97% das propriedades.

Relativamente ao manejo com a cria, em 20 (65%) propriedades os cabritos eram mantidos com as cabras e em 11(35%) propriedades praticava-se o desmame precoce.

A avaliação da mastite clínica por meio do teste da caneca telada revelou uma ocorrência baixa desta forma de apresentação da enfermidade. Apenas 2 (0,7%) animais apresentaram-se positivos ao teste, sendo que em ambos os animais os dois meios mamários foram positivos. Diversos autores têm relatado que a prevalência da mastite clínica em cabras leiteiras é baixa, geralmente menor que 5% (Bergonier et al., 2003; Contreras et al., 2007), estudo realizado em rebanhos leiteiros no estado da Paraíba não verificou casos de mastite clínica (Neves et al., 2010). Fato interessante observado refere-se ao não isolamento microbiológico no leite dos dois animais com mastite

clínica. Possivelmente, apesar de não relatado, o produtor já tinha conhecimento da enfermidade e estava fazendo uso de antimicrobianos, fato que dificulta o isolamento.

A avaliação da mastite subclínica por meio do CMT revelou que dos 290 animais analisados, 218 (75,2%) apresentaram CMT negativo ou 1+ e 72 (24,8%) apresentaram CMT 2+ ou 3+, em pelo menos um dos meios mamários. Quando a avaliação foi feita com base nos meios mamários (n=576, pois os dois com mastite clínica não foram testados) 378 (65,6%) apresentaram CMT negativo, 99 (17,2%) apresentaram 1+, 68 (11,8%) apresentaram 2+ e 31 (5,4%) apresentaram CMT 3+. De acordo com Silva et al. (2004), os resultados de CMT com escores 2+ e 3+ podem ser considerados indicativo de mastite na espécie caprina, no entanto, recomenda o isolamento microbiológico. A análise de concordância entre o CMT e o isolamento microbiológico revelou valores de 28 e 21% de concordância, com índice *Kappa* de 0,21 e 0,20 para positividade a partir dos escores $\geq 1+$ e $\geq 2+$, respectivamente, demonstrando uma fraca concordância entre o CMT e o isolamento microbiológico. Em estudo realizado por Peixoto et al. (2010a) verificaram baixas concordâncias entre isolamento microbiológico e os escores de CMT $\geq 1+$ e $\geq 2+$ (*Kappa* = 0,17), corroborando os resultados da nossa pesquisa.

A contagem de células somáticas variou de $7,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^7$, com média de $1,4 \times 10^6$ cel/mL. Foi verificado que 170 (30%) meios mamários apresentaram CCS acima de $1,0 \times 10^6$ cel/mL e 131 (23%) acima de $1,5 \times 10^6$ cel/mL. A análise de concordância entre CCS e isolamento microbiológico relevou valores de 22 e 16% de concordância, com índice *Kappa* de 0,17 e 0,14 para CCS $\geq 1,0 \times 10^6$ e $\geq 1,5 \times 10^6$ cel/mL, respectivamente.

As baixas concordâncias entre isolamento microbiológico e avaliações citológicas (CCS e CMT) podem estar associadas à multicausalidade da elevação da CCS na espécie caprina. Outros fatores além da infecção intramamária, tais como as práticas de manejo, estágio de lactação, número de partos e a artrite encefalite caprina (CAE) contribuem na elevação da CCS (Paape et al., 2007). Em estudo realizado por Wilson et al. (1995) foi verificado que aproximadamente 90% na variação na CCS está relacionada a causas não mastíticas. Outra questão que pode ter colaborado com os resultados obtidos relativamente à CCS é o fato da contagem ter sido realizada em equipamento automatizado. A secreção do leite na cabra é do tipo apócrina, diferente da

secreção merócrina observada em vacas, o que resulta no desprendimento de partículas citoplasmáticas no leite caprino, sendo estas partículas erroneamente contadas como células de defesa (Paape e Capuco, 1997; Paape et al., 2001).

Quando o isolamento microbiológico foi utilizado como padrão ouro para diagnóstico da mastite, 43 (14,8%) animais e 56 (19,3%) meios mamários foram classificados como mastíticos. Como nos dois casos de mastite clínica não isolou-se microrganismos, todos os casos de isolamento referem-se à mastite subclínica. A prevalência anual da mastite é influenciada por diversos fatores, relacionados ao animal, aos patógenos e ao ambiente de criação (Peixoto et al., 2010b), diversos estudos realizados no Brasil e em outros países tem verificado que a forma subclínica é a mais prevalente da enfermidade em cabras (Bergonier et al., 2003; Silva et al., 2004; Neves et al., 2010; Gebrewahid et al., 2012; Marogna et al., 2012), numa compilação de diversos estudos Contreras et al. (2007), verificaram que a prevalência da mastite subclínica varia entre 5-30%, faixa dentro da qual encontra-se a prevalência observada no presente estudo.

Os microrganismos associados à mastite subclínica isolados no presente estudo foram *S. epidermidis* (34,0%), *S. aureus* (9,4%), *S. schleiferi* (9,4%), *S. intermedius* (7,5%), *S. lugdunensis* (7,5%), *S. haemolyticus* (5,7%), *S. xylosus* (5,7%), *S. hyicus* (5,7%), *S. simulans* (3,8%), *S. cohnii* (3,8%), *S. sciuri* (1,9%), *Streptococcus* spp. (1,9%), *Micrococcus* spp. (1,9%) e *Klebsiella pneumoniae* (1,9%). Na Figura 1 pode ser verificada a somatória dos percentuais de isolamento dos *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) e os demais microrganismos isolados.

Como pode ser verificado na Figura 1 os SCN foram os microrganismos predominantes (71,7%) nos rebanhos caprinos avaliados. Para outras espécies leiteiras os SCN são considerados patógenos menores, no entanto, em rebanhos caprinos leiteiros estudos (Silva et al., 2004; Langoni et al., 2006; Contreras et al., 2007; Neves et al., 2010) têm os apontado como os principais causadores da mastite, corroborando nossos achados. Estes microrganismos apresentam grande risco epidemiológico em rebanhos caprinos leiteiros, pois, por estarem na maioria das vezes associados à mastite subclínica os casos geralmente não são detectados e tratados, sendo os animais portadores disseminadores da enfermidade nos rebanhos. Desta maneira, as “Boas

Práticas de Ordenha” devem ser amplamente difundidas visando a redução dos casos de mastite e promoção da saúde pública.

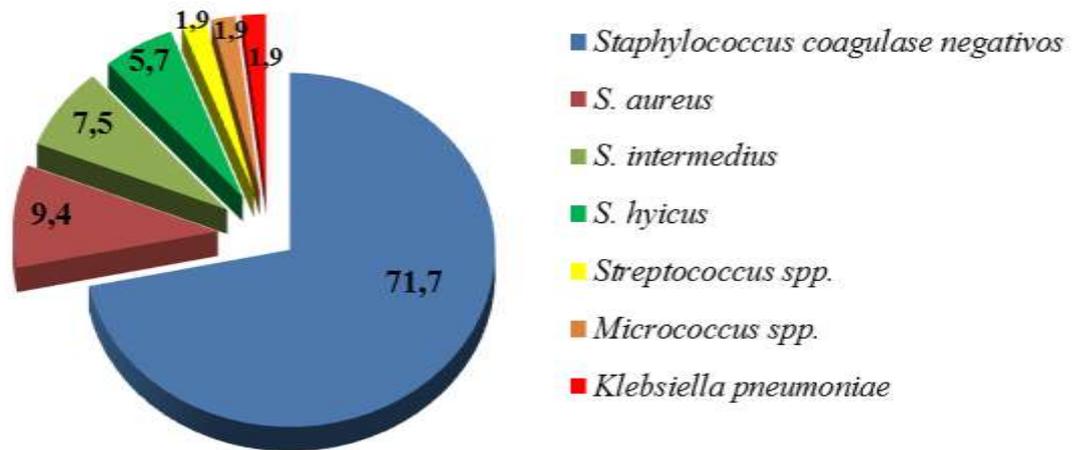


Figura 1- Percentuais de isolamento de microrganismos associados a casos de mastite subclínica em 31 rebanhos caprinos do Cariri Paraibano (n=53).

O *S. aureus* foi o segundo patógeno mais isolado entre todos os microrganismos (9,4%). Diversos estudos realizados no Brasil e em outros países têm verificado ser o *S. aureus* o segundo patógeno mais prevalente nos casos de mastite caprina (McDougall et al., 2002; Moroni et al., 2005; Neves et al., 2010; Peixoto et al., 2010a; Marogna et al., 2012), respaldando os achados do nosso estudo. Apesar da menor prevalência de isolamento do *S. aureus* em relação aos SCN, o isolamento deste microrganismo merece atenção do ponto de vista produtivo e de saúde pública. Nas mastites causadas por *S. aureus* os danos causados à glândula mamária são maiores que aqueles causados por SCN e na maioria das vezes irreversíveis, tornando os animais menos produtivos. Relativamente à saúde pública, o isolamento deste patógeno é muito preocupante, pois diversos estudos têm verificado elevado potencial de produção de várias leucotoxinas, diferente dos SCN onde a produção é nula ou ocorre em pouca quantidade (Peixoto et al., 2010b), além disso, de acordo com Rainard et al. (2003) os *S. aureus* obtidos de casos de mastites caprina são mais leucotóxicos que aqueles isolados de casos de mastite bovina. Desta forma, a adoção de práticas higiênicas de ordenha visando a eliminação deste patógeno é de extrema necessidade.

Na Figura 2 são apresentados os percentuais de cada uma das espécies de SCN isoladas. Entre os SCN o *S. epidermidis* foi prevalente, representando 47,4% dos SCN. Em relação a todos os microrganismos, esta espécie representou 34% dos isolados, ressaltando a importância do seu controle nos sistemas de produção de leite caprino. Os resultados de diversos estudos têm apontado variações na etiologia da mastite em cabras leiteiras, o consenso existente é em relação à prevalência dos SCN. Numa consistente revisão de literatura realizada por Contreras et al. (2007), os autores verificaram que o *S. epidermidis* foi o patógeno mais isolado, seguido do *S. caprae*. De forma semelhante, Marogna et al. (2012) verificaram maior prevalência de *S. epidermidis*. Por outro lado, Bergonier et al. (2003), revisando a mastite em pequenos ruminantes, verificaram ser o *S. caprae* a espécie mais prevalente em cabras, estes autores verificaram ainda que as espécies mais prevalentes de SCN em ovelhas são em ordem decrescente o *S. epidermidis*, *S. xylosum*, *S. chromogenes* e *S. simulans*, resultados semelhantes aos que observamos para a espécie caprina. É muito comum na região Nordeste a criação em conjunto de caprinos e ovinos sendo criados juntos, condição que poderia promover a transmissão de patógenos entre estas espécies, fato que poderia justificar a etiologia observada no nosso estudo quando comparada à observada por Bergonier et al. (2003) para a espécie ovina.

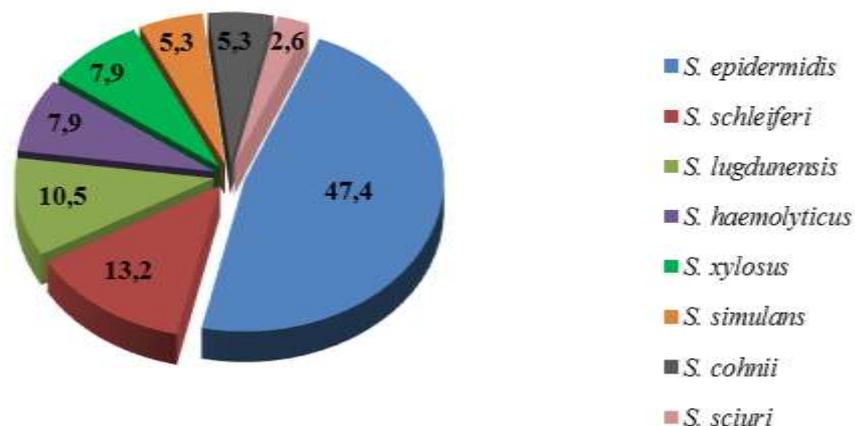


Figura 2 – Percentuais de *Staphylococcus* coagulase negativos (n=34), em relação aos *Staphylococcus* totais (n=53), isolados de casos de mastite subclínica em 31 rebanhos caprinos do Cariri Paraibano.

Na Tabela 1 podem ser verificados os percentuais de resistência antimicrobiana dos *Staphylococcus spp.* (n=47) isolados de casos de mastite caprina em rebanhos do Cariri Paraibano. Os percentuais foram expressos em três grupos: *Staphylococcus* totais, *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) e *Staphylococcus* coagulase positivos (SCP), sendo estes dois últimos grupos subdivididos em função dos microrganismos com maior prevalência em cada um deles (*S. epidermidis* para os SCN e *S. aureus* para os SCP).

Verificou-se pan-susceptibilidade à gentamicina, neomicina, cloranfenicol e cefalotina. Estudos realizados em rebanhos caprinos na região Nordeste verificaram perfil de pan-susceptibilidade semelhantes aos observados no presente estudo (Santos Neto et al., 2009.; Neves et al., 2010). A gentamicina e neomicina, antimicrobianos do grupo dos aminoglicosídeos, passaram a ser utilizados mais recentemente em tratamentos animais, sendo esta a possível causa da pan-susceptibilidade observada. A cefalotina é um antimicrobiano de uso bastante restrito na região, em nenhuma das propriedades visitadas neste estudo verificou-se o uso deste antimicrobiano. Por sua vez, o uso de cloranfenicol é proibido para animais de produção pelo alto poder residual dessa droga, causa possível da sua pan-susceptibilidade.

Os SCN, em especial os *S. epidermidis*, além de ter sido a espécie mais prevalente nos casos de mastite observados neste estudo, apresentaram elevados percentuais de resistência, principalmente às penicilinas e tetraciclina, com percentuais chegando a 32, 30 e 20% para ampicilina, Penicilina G e tetraciclina, respectivamente. Resultados semelhantes aos do presente estudo foram verificados em outros estudos de resistência antimicrobiana realizados no estado da Paraíba (Neves et al., 2010; Garino et al., 2011), onde têm-se verificado percentuais de resistência acima de 60% para ampicilina e penicilina G. Esta é uma situação preocupante, pois estes antimicrobianos são utilizados na terapia humana. Os elevados percentuais de resistência provavelmente são decorrentes do uso indiscriminado destas drogas nos rebanhos caprinos, as penicilinas e a tetraciclina são os antimicrobianos mais utilizados no tratamento da mastite na região. O uso indiscriminado e irresponsável de antibióticos, terapêutica ou profilaticamente, em humanos ou animais, tem exercido pressão seletiva, sugerindo-se como resultando a seleção de cepas bacterianas cada vez mais resistentes (Del Fiol et al., 2010).

Tabela 1 - Resistência antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus spp.*(n=47) isolados de casos de mastite subclínica em rebanhos caprinos do Cariri paraibano.

	Resistência antimicrobiana (%)				
	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Staphylococcus coagulase negativos</i>		<i>Staphylococcus coagulase positivos</i>	
	Total	<i>S. epidermidis</i>	SCN ¹	<i>S. aureus</i>	SCP ²
Ampicilina	75	32	27	9	7
Cefalexina	5	0	5	0	0
Cefalotina	0	0	0	0	0
Ceftiofur	2	0	2	0	0
Cefotaxima	7	2	2	2	0
Cloranfenicol	0	0	0	0	0
Gentamicina	0	0	0	0	0
Neomicina	0	0	0	0	0
Norfloxacina	5	0	5	0	0
Oxacilina	20	11	5	2	2
Tetraciclina	34	20	9	0	5
Penicilina G	77	30	29	9	9
Kanamicina	5	2	2	0	0
Vancomicina	2	2	0	0	0

¹ *Staphylococcus coagulase negativos exceto S. epidermidis;*

² *Staphylococcus coagulase positivos exceto S. aureus.*

Um fato positivo observado no presente estudo foi os baixos percentuais de resistência apresentados pelos SCP, inclusive os *S. aureus*, que apresentaram sensibilidade acima de 90% para todos os antimicrobianos testados. Em estudo realizado na região Nordeste por Silva et al. (2004), foi verificado 36% de resistência frente à penicilina em isolados de *S. aureus*. Já Langoni et al. (2006), em estudo realizado no Estado de São Paulo, verificaram percentuais de resistência em *S. aureus* de 75 e 87,5% para ampicilina e penicilina, respectivamente.

O fenômeno da múltipla resistência foi observado em 41 (87%) isolados. Na Tabela 2 podem ser verificados os percentuais de múltipla resistência e os fenótipos de resistência observados. Os perfis de resistência a antimicrobianos mais observados foram em ordem decrescente de percentual a quatro (29,8%), cinco (19,1%), dois

(14,9%), seis (12,8%) e três (10,6%) antimicrobianos. Garino et al. (2011), realizaram uma análise semelhante em *Staphylococcus spp.* isolados de mastite caprina no estado da Paraíba e verificaram, assim como neste trabalho, diversos isolados de *Staphylococcus* apresentando múltipla resistência, com predominância de resistência a 3 antimicrobianos. No presente estudo a múltipla resistência foi detectada, principalmente, nos isolados de SCN, com maior ocorrência nos *S. epidermidis*. Desta maneira, além de ter apresentado os maiores valores de resistência aos antimicrobianos de forma individual, os *S. epidermidis* apresentaram também elevado potencial de multiresistência, indicando uma situação ainda mais preocupante, pois o tratamento de animais com mastite na região torna-se mais difícil devido a ineficiência dos principais antimicrobianos disponíveis no mercado (penicilinas e tetraciclina), trazendo assim maiores gastos e prejuízos para os proprietários.

Tabela 2 – Percentuais de múltipla resistência *in vitro* aos antimicrobianos e fenótipos de resistência de *Staphylococcus spp.* (n=47) isolados de casos de mastite subclínica em rebanhos caprinos do Cariri paraibano.

Resistência	n	%	Fenótipos de resistência observados ¹
Dois antimicrobianos	7	14,9	BacCfe/BacPen/NorOxa/BacOxa/OxaPen
Três antimicrobianos	5	10,6	AmpBacPen/AmpOxaPen/BacOxaPen
Quatro antimicrobianos	14	29,8	AmpBacOxaPen/AmpBacCtxOxa/AmpCtxOxaPen/ AmpCtxPenTet/BacOxaPenTet
Cinco antimicrobianos	9	19,1	AmpBacOxaPenTet/AmpBacCtxOxaPen/ AmpCtxOxaPenTet/BacCfeCfurCtxOxa
Seis antimicrobianos	6	12,8	AmpBacNorOxaPenTet/AmpKanOxaPenTetVan
Total	41	87,2	-----

¹Amp (Ampicilina), Cfe (Cefalexina), Bac (Bacitracina), Nor (Norfloxacin), Oxa (Oxacilina), Pen (Penicilina G), Ctx (Cefotaxima), Tet (Tetraciclina), Cfur (Ceftiofur), Kan (Kanamicina), Van (Vancomicina).

Na Tabela 3 estão expressos os valores da concentração inibitória mínima (CIM) dos antimicrobianos frente à *Staphylococcus spp.* Os microrganismos foram divididos em três grupos: *Staphylococcus* totais, *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) e *Staphylococcus* coagulase positivos (SCP), sendo estes dois últimos grupos

subdivididos em função dos microrganismos com maior prevalência em cada um deles (*S. epidermidis* para os SCN e *S. aureus* para os SCP). Nas colunas CIM₅₀ e CIM₉₀ são apresentadas as menores concentrações ($\mu\text{g/mL}$) que foram eficazes na inibição de 50% e 90% dos isolados de *Staphylococcus*, respectivamente.

Ao compararmos os percentuais de resistência dos *Staphylococcus spp.* verificados na CIM (AutoScan 4) com aqueles observados pelo método *in vitro* Kirby-Bauer (Tabela 1), para os antibióticos em comum nos dois métodos, verificamos que os dois métodos se confirmam, de modo geral, os antimicrobianos que apresentaram os maiores percentuais de resistência no método Kirby-Bauer (ampicilina, penicilina G, tetraciclina e oxacilina) também apresentaram percentuais de resistência entre os maiores pelo método semiautomatizado. No entanto, o método de microdiluição em placas mostrou mais eficaz na detecção de resistência para alguns antimicrobianos, a exemplo, a gentamicina para a qual havia sido verificada pan-susceptibilidade frente a todos os microrganismos e no método de microdiluição foram verificados percentuais de 16, 22, 10 e 20% para *Staphylococcus spp.*, *S. epidermidis*, SCN (exceto *S. epidermidis*) e *S. aureus*, respectivamente. Observou-se percentuais de resistência bem mais elevados pelo método da microdiluição em placas para os SCP. Os *S. aureus* que haviam apresentado percentual de 9% de resistência à ampicilina e penicilina G apresentaram, pelo método de microdiluição, percentuais de 80 e 40% para os referidos antimicrobianos, respectivamente.

De acordo com os valores de CIM observados, pode-se verificar que a maioria dos *Staphylococcus* foram sensíveis aos antimicrobianos testados, com concentrações aceitáveis. Notadamente, o Trimetoprim associado ao Sulfametoxazol apresentou apenas 6% de resistência, indicando ser uma alternativa eficaz no tratamento da mastite caprina na região.

A ampicilina associada ao Sulbactam apresentou menor resistência (16%) quando comparada à ação da ampicilina individualmente (88%), demonstrando que seu uso associado a outras drogas, como o Sulbactam, potencializa sua ação frente aos patógenos da mastite caprina. O sulbactam é uma droga semi-sintética que não é muito efetiva como antibiótico, mas capaz de inibir β -lactamases produzidas por estafilococos, formando um complexo irreversível com elas, deixando os antibióticos β -lactâmicos ativos sobre as bactérias. Os menores índices de resistência observados para essa

associação, em comparação ao uso da ampicilina individualmente, sugere que os *Staphylococcus* isolados nos casos de mastite caprina são produtores de β -lactamases.

Quanto às concentrações encontradas foi observado que, assim como no método disco-difusão os SCN, em especial o *S. epidermidis*, foram os *Staphylococcus* de maiores resistências, e também maiores concentrações para os antibióticos resistentes. Para penicilina, por exemplo, os *S. epidermidis* apresentaram concentrações para inibição maiores que 8 $\mu\text{g/mL}$ (para CIM₅₀ e CIM₉₀), enquanto os SCP apresentaram apenas 2 $\mu\text{g/mL}$ para inibição (CIM₉₀). Poucos estudos têm avaliado a CIM dos antimicrobianos frente à *Staphylococcus* isolados de casos de mastite caprina. Em estudo realizado por Garino et al. (2011), onde trabalharam com *Staphylococcus spp.* obtidos em sistemas de produção de leite caprino semelhantes aos do nosso estudo, verificaram resultados variáveis em relação aos nossos, observando concentrações inibitórias mínima maiores para eritromicina (CIM₅₀ e CIM₉₀) e tetraciclina (CIM₉₀).

Apesar da dificuldade logística e elevados custos para realização da lactocultura e avaliação da sensibilidade, estes deveriam ser os passos iniciais nos casos de mastite, com indicação terapêutica baseada nos valores obtidos pelas CIM. De acordo com Brito et al. (2001) a terapia deve atingir concentrações do antimicrobiano no local da infecção, mais elevadas que as determinadas pela CIM.

Tabela 3 - Concentração inibitória mínima de *Staphylococcus* isolados de casos de mastite subclínica em rebanhos caprinos do Cariri paraibano.

Antimicrobiano		A/S ²	AM	AUG	CAX	CD	CP	DAP	E	FD	GM	LVX	LZD	OX	P	RIF	SYN	T/S	TE	VA
		PC ¹ (µg/mL)																		
<i>Staphylococcus</i> spp. Total	CIM ₅₀	≤8/4	≤2	≤4/2	≤8	≤0.5	≤1	≤1	≤0.5	≤32	≤4	≤1	2	≤0.25	2	≤1	≤0.5	≤0.5/9.5	≤4	≤2
	CIM ₉₀	>16/8	>8	4/2	32	>4	1	>4	>4	>64	8	4	>4	>2	>8	>2	>2	≤2/38	>8	2
	R(%) ³	16	88	16	14	29	10	31	24	18	16	27	20	24	53	22	12	6	35	10
<i>S. epidermidis</i>	CIM ₅₀	≤8/4	8	≤4/2	≤8	≤0.5	≤1	≤1	≤0.5	≤32	≤4	≤1	2	≤0.25	8	≤1	≤0.5	≤0.5/9.5	8	2
	CIM ₉₀	>16/8	>8	>4/2	8	>4	1	>4	2	>64	8	>4	>4	2	>8	2	≤1	≤2/38	>8	>2
	R(%)	17	100	22	11	33	6	28	17	17	22	33	22	22	89	17	11	56	11	6
SCN ⁴	CIM ₅₀	≤8/4	≤2	≤4/2	≤8	≤0.5	≤1	≤1	≤0.5	≤32	≤4	≤1	2	≤0.25	≤0.03	≤1	≤1	≤0.5/9.5	≤4	1
	CIM ₉₀	>16/8	>8	>4/2	32	>4	>2	>4	>4	>64	4	4	>4	>2	>8	>2	>2	≤2/38	8	>16
	R(%)	14	81	19	19	38	14	43	24	24	10	19	24	29	29	29	19	0	14	14
<i>S. aureus</i>	CIM ₅₀	≤8/4	≤2	≤4/2	≤8	≤0.5	≤1	≤0.5	≤0.5	≤32	≤4	≤1	≤1	≤0.25	≤0.03	≤1	≤0.5	≤0.5/9.5	≤4	1
	CIM ₉₀	8/4	>8	4/2	8	0.5	1	1	1	32	4	4	4	0.25	>8	1	0.5	0.5/9.5	8	≤2
	R(%)	20	80	0	20	20	20	40	40	20	20	20	0	20	40	20	0	0	40	0
SCP ⁵	CIM ₅₀	≤8/4	≤2	≤4/2	≤8	≤5	≤1	≤0.5	≤0.5	≤32	≤4	≤1	≤1	≤0.25	≤0.03	≤1	≤0.5	≤0.5/9.5	≤4	1
	CIM ₉₀	8/4	2	4/2	8	5	1	≤1	0.5	32	4	4	2	0.25	2	1	≤1	>2/38	>8	≤2
	R(%)	14	86	0	0	0	0	0	14	0	0	43	14	14	43	14	0	29	43	0

¹ Ponto de corte (PC) dado em µg/mL para cada antimicrobiano;² A/S (Ampicilina/Sulbactam); AM (Ampicilina); AUG (Amoxicilina/Clavulanato de K); CAX (Ceftriaxona); CD (Clindamicina); CP (Ciprofloxacina); DAP(Daptomicina); E (Eritromicina); FD (NitroFurantoína); GM (Gentamicina); LVX (Levofloxacina); LZD (Linezolid); OX (Oxacilina); P (Penicilina G); RIF (Rifamicina); SYN (Sinercid); T/S (Trimetoprim/Sulfametoxazol); TE (Tetraciclina); VA (Vancomicina);³ Resistência dada em porcentagem (R%);⁴ *Staphylococcus* coagulase negativos exceto *S. epidermidis*;⁵ *Staphylococcus* coagulase positivos exceto *S. aureus*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As baixas concordâncias entre os métodos indiretos de diagnóstico da mastite (CMT e CCS) e o isolamento bacteriano, observadas neste e em outros estudos, indicam que a utilização destes métodos merece bastante precaução e apontam que eles devem ser utilizados acompanhados do isolamento microbiológico. Estudos para desenvolvimento de novas ferramentas para o rápido monitoramento da mastite caprina necessitam ser realizados, como por exemplo, a avaliação de enzimas específicas indicadoras de lesão no tecido mamário.

A avaliação da etiologia da mastite caprina realizada neste estudo revela a importância dos *Staphylococcus* coagulase negativos, em especial o *S. epidermidis*, nas infecções intramamárias nesta espécie e sugere que o controle da mastite caprina é uma medida essencial na promoção da saúde pública, principalmente, levando-se em consideração os elevados percentuais de resistência observados para os SCN à antimicrobianos como as penicilinas e tetraciclina. Por outro lado, a gentamicina, neomicina e cefalotina apresentaram boa eficácia sobre os microrganismos, devendo ser incluídos nos tratamentos da mastite caprina na região.

De acordo com os valores de CIM observados, pode-se verificar que a maioria dos *Staphylococcus* foram sensíveis aos antimicrobianos testados, com concentrações aceitáveis. Notadamente, o Trimetoprim associado ao Sulfametoxazol apresentou apenas 6% de resistência, indicando ser uma alternativa eficaz no tratamento da mastite caprina na região estudada.

Por fim, os resultados apresentados ressaltam a necessidade de implementação de programas de melhoria da qualidade do leite caprino no Nordeste do Brasil, condição fundamental para a atividade diminuir a dependência dos programas de fomento governamentais e alcançar inserção no exigente mercado privado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGONIER, D.; DE CRÉMOUX, R.; RUPP, R. et al. Mastitis of dairy small ruminants. **Veterinary Research**, v.34, p.689-716, 2003.
- BRITO, M.A.V. P.; BRITO, J.R.F.; SILVA, M.A.S.; CARMO, R.A. Concentração inibitória mínima de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p. 531-537, 2001.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standart – seventh edition. CLSI document M7-A7 (ISBN 1-56238-587-9). **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2006.
- CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A. et al. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.68, p.145-153, 2007.
- DEL FIOLE, F. S.; LOPES, L. C.; TOLEDO, M. I. ; BARBERATO FILHO, S. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 68-72, 2010.
- GARINO, F.J; CAMBOIM, E.K.A.; NEVES, P.B. et al. Susceptibilidade a antimicrobianos e produção de betalactamase em amostras de *Staphylococcus* isolados de mastite caprina no Semiárido Paraibano. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.1, p.103-107, 2011.
- GEBREWAHID, T.T.; ABERA, B.H.; MENGHISTU, H.T. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in small ruminants of Tigray Regional State, North Ethiopia. **Veterinary World**, v.5, n.2, p.103-109, 2012.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; BALDINE, S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.13, n.1, p.51-54, 2006.
- MAROGNA, G.; PILO, C.; VIDILI, A.; et al. Comparison of clinical findings, microbiological results, and farming parameters in goat herds affected by recurrent infectious mastitis. **Small Ruminant Research**, v.102, p.74-83, 2012.
- MCDUGALL, S.; MURDOUGH, P.; PANKEY, W. et al. Relationship among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of

- milk in goats and sheep in early lactation. **Small Ruminant Research**, v.40, p.245-254, 2001.
- MCDUGALL, S.; PANKEY, W.; DELANEY, C. et al. Prevalence and incidence of subclinical mastitis in goats and dairy ewes in Vermont, USA. **Small Ruminant Research**, v.46, p.115-121, 2002.
- MORONI, P.; PISONI, G.; RUFFO, G.; BOETTCHER, P.J. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. **Preventive Veterinary Medicine**, v.69, p.163-173, 2005.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL - NMC. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. **Natl. Mastitis Council Inc.**, Madison, WI, 1999.
- NEVES, P.B.; MEDEIROS, E.S.; SÁ, V.V. et al. Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.5, p.379-384, 2010.
- OLIVEIRA, C.J.B.; HISRICH, E.R.; MOURA, J.F.P. et al. On farm risk factors associated with goat milk quality in Northeast Brazil. **Small Ruminant Research**, v.98, p.64-69, 2011.
- PAAPE, M.J e CAPUCO, A.V. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. **Journal of Animal Science**, v.75, n.5, p.556-565, 1997.
- PAAPE, M.J.; POUTREL, B.; CONTRERAS, A. et al. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.E. Suppl, p. E237-E244, 2001.
- PAAPE, M.J.; WIGGANS, G.R.; BANNERMAN, D.D et al. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. **Small Ruminant Research**, v.68, n.4, p.114-125, 2007.
- PEIXOTO, R.M.; FRANÇA, C.A.; SOUZA JÚNIOR, A.F. et al. Etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos da mastite caprina em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.9, p.735-740, 2010a.
- PEIXOTO, R.M.; MOTA, R.A.; COSTA, M.M. Mastite em pequenos ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.9, p.754-762, 2010b.
- PERRIN, G.G.; MALLEREAU, M.P.; LENFANT, D.; BAUDRY, C. Relationship between California Mastitis Test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.26, p.167-170, 1997.

- RAINARD, P.; CORRALES, J.C.; BARRIO, M.B. et al. Leucotoxic activities of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows, ewes, and goats with mastitis: importance of LukM/LukF'-PV leukotoxin. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.10, n.2, p.272-277, 2003.
- SANTOS NETO, T.M.; MOTA, R.A.; SILVA, L.B.G. et al. Susceptibility of *Staphylococcus spp.* isolated from milk of goats with mastitis to antibiotics and green propolis extracts. **Letters in Drug Design e Discovery**, v.6, n.1, 2009.
- SANTOS, M.V; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007, 314p.
- SCHALM, O.W.; CARROL, E.J.; JAIN, N.C. Bovine mastitis. Physical and chemical testes for detection of mastitis. **Lea and Febiger**, Philadelphia, p.128-157, 1971.
- SILVA, E.R.; SIQUEIRA, A.P.; MARTINS, J.C.D. et al.. Identification and in vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goat mastitis in the Northeast of Brazil. **Small Ruminant Research**. v.55, p.45-49, 2004.
- TONIN, F.B.; NADER FILHO, A. Correlação entre o "California Mastitis Test" e o exame bacteriológico no leite de cabras. **Arquivos de Veterinária**, v.21, p.155-159, 2005.
- WILSON, D.J.; STEWART, K.N.; SEARS, P.M. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.16, p.165-169, 1995.

APÊNDICE

Apêndice 1- Questionário aplicado para coleta de informações relativas aos sistemas de produção de leite bovino no Cariri paraibano.

Identificação da propriedade

Número: _____ DATA: ____ / ____ / ____

Nome do proprietário: _____ Idade: _____

Nome da propriedade: _____

Localização: _____ Telefone: () _____ Fax: () _____

Email: _____

Município: _____ Estado: _____ CEP: _____

Perfil do proprietário

Tempo na atividade: _____ anos.

Nível de escolaridade: _____.

Tem formação em agropecuária () sim () não. Se sim qual?

_____.

Desempenha outras atividades? Sim () Não ()

Se sim qual ou quais atividades?

_____.

Renda mensal oriunda da atividade leiteira: () até 5 salários () entre 5 e 10 salários () mais de 10 salários

Onde reside? () na fazenda () na cidade () em ambas

Instalações

Tem sala de ordenha () sim () não

Se sim, qual o tipo de piso _____

Qual o tipo de revestimento das paredes _____

Estado de conservação das instalações: ótimo () médio () regular ()

As instalações, principalmente a sala de ordenha, são adequadas para o processo de higienização? () sim () não

Se não são adequadas, o que falta?

Características do rebanho

Número total de vacas na atividade leiteira: _____ cabeças.

Composição racial dessas vacas

() Holandesa () 7/8 Holandês () 3/4 Holandês

() 1/2 Holandês () Girolando () Azebuada

Vacas em lactação _____ Cabeças

Produção total _____ Litros

Média de produção (L/vaca/dia): _____.

Desempenha outra atividade animal na propriedade () sim () não

Se sim, Qual? _____.

Tem algum tipo de assistência técnica na atividade leiteira? () sim () não

Manejo nutricional

Sistema de produção: () Intensivo () Semi-intensivo () Extensivo

Fornece concentrado: () sim () não

Fornece alimentação aos animais logo após a ordenha? () sim () não

Manejo sanitário

Quais as vacinas que aplica?

Realiza exames de:

Brucelose: () sim () não

Tuberculose: () sim () não

CCS: () sim () não

CMT: () sim () não

Faz vermifugações? () sim () não. Se sim, com que frequência?

_____.

Tem problemas com ectoparasitos? () sim () não. Se sim, qual o tratamento?

_____.

Tem problemas com mastite? () sim () não. Se sim, qual o tratamento? _____.

Descarta as vacas com mastite crônica? () sim () não () nunca teve casos

Realiza algum procedimento de secagem das vacas? () Sim () Não.

Tempo do período seco _____ dias

Utiliza algum medicamento na secagem das vacas? () Sim () Não.

Se sim, qual?

_____.

Manejo da cria

Bezerro ao pé () () Desmame precoce

Se for bezerro ao pé explicar o manejo de mamada.

_____.

Procedimentos de ordenha

Tipo de ordenha () manual () mecânica.

Local da ordenha: () sala de ordenha () curral

Limpeza da sala de ordenha: ótima () média () deficiente ()

Lavagem das tetas: sim () não ()

Uso de caneca telada: sim () não ()

Uso de pré-dipping: sim () não (). Qual? _____.

Uso de pós-dipping: sim () não (). Qual? _____.

Utiliza toalhas: () de pano () de papel () não utiliza nada

Uso do coador e baldes higiênicos: sim () não ()

Limpeza dos utensílios ótima () média () deficiente ()

Limpeza do estábulo: ótima () média () deficiente ()

Asseio do ordenhador: ótimo () médio () deficiente ()

Número de ordenhas/dia: () uma () duas () três

Horário das ordenhas: _____.

Realiza linha de ordenha: () sim () não

Nº de pessoas envolvidas na ordenha: _____.

Sexo dos/das responsáveis pela ordenha: () masculino () feminino

Armazenamento do leite

Armazenamento do leite: () latão () tanque particular () tanque coletivo

Tempo médio decorrente desde a obtenção até o resfriamento _____.

Coleta do leite na propriedade: () latão () caminhão isotérmico.

Informações sobre a água utilizada no processo de ordenha

Origem da água utilizada: () Açude/ barragem/ lagoa/Rio () Poço artesiano () Sistema público de distribuição.

Tem caixa d'água () Sim () Não. Se sim com qual frequência esta é lavada._____.

Realiza algum procedimento de tratamento da água () Sim () Não.

Apêndice 2- Questionário aplicado para coleta de informações relativas aos sistemas de produção de leite caprino no Cariri paraibano.

NÚMERO: _____ DATA: ___ / ___ / _____

Nome do proprietário: _____

Idade: _____

Nome da propriedade: _____

Localização: _____

Município: _____ Estado: _____ CEP: _____

A) PERFIL DO PRODUTOR

1º) Tempo na atividade: _____ anos.

2º) Nível de educação do proprietário (Escolaridade):

Analfabeto ()

Primário Incompleto ()

Primário Completo ()

Médio Incompleto ()

Médio Completo ()

Superior Incompleto ()

Superior Completo ()

3º) Perfil do criador:

Desempenha outras atividades? Sim () Não (). Se sim, qual? _____

_____.

Onde reside? () na fazenda () na cidade () em ambas

Renda mensal estimada oriunda da atividade leiteira: R\$_____.

B) PERFIL DA PROPRIEDADE

4º) Área total da propriedade:_____hectares.

5º) Área destinada à atividade leiteira: _____hectares.

6º) Área de pastagem cultivada: _____ hectares.

Palma: _____ hectares.

Sorgo: _____ hectares.

Capineira:_____ hectares.

Área de pastagem Nativa: _____ hectares.

7º) Faz conservação de forragem? () Sim () Não

Se sim, qual técnica utiliza () Silagem () Fenação

Ainda se sim, descreva a (as) forrageira (as): _____

 _____.

8º) As instalações são suficientes para a atividade? () Sim () Não

Se não, o que falta? _____.

Estado de conservação: () Bom () Regular () Ruim

9º) Possui aprisco? Sim () Não () Se sim, qual tipo de piso:

Aprisco suspenso ()

Chão batido ()

Ripado ()

Cimentado ()

Outros () Especificar_____

10º) Origem da água utilizada: () Açude/barragem/lagoa/rio () Poço artesiano () Sistema público

11º) Tem caixa d'água? () Sim () Não.

12º) Realiza algum procedimento de tratamento da água? () Sim () Não.

C) ADMINISTRAÇÃO RURAL

13º) Faz controle zootécnico?

Se sim, como é realizado? () Ficha () Livro () Computador

Quais registros são feitos?

Registro de cobertura ()

Registro de nascimentos ()

Registro de partições ()

Registro de secagens ()

Controle de despesas receitas ()

Controle leiteiro ()

14º) Recebe assistência técnica? () Sim () Não

Se sim, qual a frequência? _____
_____.

Formação profissional do técnico: _____

Vínculo: _____.

Nível de satisfação com a assistência: () alta () média () baixa

15º) Mão de obra predominante: Familiar () – Quantas pessoas/dia? _____

Contratada () – Quantas pessoas/dia? _____

D) PERFIL ZOOTÉCNICO DO REBANHO

16º) Quantidade de semoventes (cabeças). Obs.: Não considerar as crias:

Bovinos:_____ Caprinos:_____ Ovinos:_____ Outros:_____

17º) Tipo de exploração caprina

Leite Cria Recria Engorda Confinamento

18º) Composição do rebanho:

Cabras em Lactação: _____ cabeças.

Cabras Secas: _____ cabeças.

Machos de cria e recria: _____ cabeças.

Reprodutores: _____ cabeças

Raça do reprodutor:_____ Quantidade:_____.

Composição racial predominante no rebanho:

Anglonubiano ou mestiça de Anglo

Parda ou mestiça de Parda

Saanen ou mestiça de Saanen

Moxotó ou mestiça de Moxotó

Canindé ou mestiça de Canindé

Toggenburg ou mestiça de Toggen

Sem Raça Definida (SRD)

Outras

19º) Produção de Leite no dia da entrevista (vendido + consumo): _____ kg.

20º) Período médio de lactação _____ dias.

21º) Faz secagem dos cabras em função de que:

previsão de parto diminuição da produção de leite

F) MANEJO DA ORDENHA

22º) Número de ordenhas: () Uma () Duas () Três

23º) Tipo de ordenha: () Manual () Mecânica

24º) Número de pessoas dedicadas à ordenha: () Uma () Duas ()
Três

26º) As instalações, principalmente a sala de ordenha, são adequadas para o processo de higienização?

() Totalmente () Parcialmente () Não são adequadas

Se não são adequadas, o que falta? _____.

27º) Sobre a higienização da ordenha:

Limpeza da sala antes da ordenha () S () N

Higiene do ordenhador () S () N

Uso da caneca telada () S () N

Lavagem das tetas () S () N

Uso da solução iodada () S () N

Toalhas de pano ou papel () S () N

Uso do coador e baldes higiênicos () S () N

Limpeza da plataforma após ordenha () S () N

28º) Os primeiros jatos de leite são examinados para verificar anormalidades?

() Sim () Não

29º) As tetas são desinfetadas depois da ordenha? () Sim () Não

30º) Tipo de coador: () Aço inoxidável () Plástico () Tecido () Não
usa

31º) A alimentação é fornecida após a ordenha para que as cabras fiquem em pé por no mínimo 1 hora?

() Sim () Não

32º) É adotada a linha de ordenha? () Sim () Não

33º) Em caso positivo, em que ordem os animais são ordenhados?

1ª _____ 2ª _____ 3ª _____

34º) Armazenamento do leite na fazenda: () latão () tanque de resfriamento

35º) Coleta do leite na propriedade: () em latão () caminhão com tanque de resfriamento

36º) A comercialização é feita: () In natura () Congelado () Pasteurizado

Local: () No próprio município () Em outro(s) município(s)

Fabricação de outros produtos: () Doce de leite () Iogurte () Queijos

G) MANEJO SANITÁRIO

37º) Há registro de casos de mastite clínica? () Sim () Não

Se tem problemas com mastite, realiza algum tratamento? () Sim () Não

Se faz tratamento, as tetas são limpas antes do tratamento? () Sim () Não

38º) Medicamentos usados para tratamento da mastite clínica nas cabras em lactação: _____

39º) Obedece o período de carência dos antibióticos para o aproveitamento do leite?

() Sim () Não

40º) Faz a identificação do leite proveniente de cabras tratadas? () Sim () Não

41º).Faz a identificação do leite de cabras com suspeita de mastite ou outra doença?

() Sim () Não

42º) Como é feito o descarte do leite?

De todos os tetos Somente do teto tratado Não é feito o descarte

43º) Qual o destino do leite do animal tratado? _____

44º) Os animais têm contato com animais de outras propriedades? Sim Não

45º) Existe contato entre os animais de diferentes grupos de idade? Sim Não

46º) As cabras em lactação são mantidas separadas do restante do rebanho?

Sim Não

48º) Tratamentos que realiza:

Vermífugo Sim Não

Carrapaticida Sim Não

Ectoparasitos Sim Não

49º) Quais as doenças mais frequentes no rebanho?

Artrites

Bicheira

Conjuntivite

Diarreias

Boqueira

Ectoparasita (piolhos, carrapatos, bernes)

Linfadenite caseosa (mal do caroço)

Mamites

Pneumonia

H) MANEJO REPRODUTIVO

50°) Qual manejo utiliza? monta natural a campo monta natural controlada I.A.

51°) Observação de cio? Rufião Comportamento da cabra Bode

52°) Relação Bode-Cabra: 1/_____.

53°) Tem muito problema de repetição de cio? Sim Não.

Se sim, a que atribui esse problema?_____.

I) MANEJO ALIMENTAR

54°) Uso de Concentrados.

Fornece de acordo com a produção? Sim Não

Fornece apenas na ocasião da ordenha? Sim Não

55°) Quais volumosos utilizam no momento?

palma forrageira capim (sorgo, elefante, milho, etc) silagem feno

56°) Como faz a mineralização do rebanho?

por categoria o mesmo para todos os animais

Local de fornecimento: cocho ar livre na ração

57°) O manejo alimentar adotado contribui para expressar totalmente o potencial genético dos animais?

Sim Não

J) FINANCIAMENTOS

58°) Crédito Bancário? Sim Não

Se sim, qual programa? _____.

Qual a finalidade do crédito? _____.

59°) Pretende expandir a atividade leiteira? Sim Não

Se sim, de que forma pretende expandir?

Aumento do número de cabras ()

Aumento na produção de forragens ()

Melhorias na profilaxia sanitária ()

Maior especialização das cabras ()

Introdução da Inseminação Artificial ()

Apêndice III – Ficha de campo utilizada no terceiro estudo

Número da propriedade: Nome do produtor:

N° do animal	Identificação	Ordem de parto	Estágio de lactação	Conformação de úbere	Perfil racial	Histórico de mastite	CMT		TAMIS	
							Teto 1 D	Teto 2 E	Teto 1 D	Teto 2 E
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										

Informações gerais do processo de ordenha

Local da ordenha: () sala de ordenha () curral Limpeza do local de ordenha () boa () regular () ruim

Asseio do ordenhador: () bom () regular () ruim N° de pessoas envolvidas na ordenha: _____.

Lavagem das tetas: sim () não () A água é clorada? sim () não () Utiliza toalhas: () de pano () de papel () não utiliza nada

Uso de caneca telada: sim () não () Uso de pré-dipping: sim () não (). Qual? _____.

Uso de pós-dipping: sim () não (). Qual? _____.

Número de ordenhas/dia: () uma () duas Horário das ordenhas: _____.

Realiza linha de ordenha: () sim () não Está usando ATB: () sim () não. Qual? _____.

Antimicrobianos constantemente usados: _____.

Alimenta imediatamente após a ordenha: () sim () não Número de animais _____.

Média animal _____.

Manejo com cabritos: () ao pé () desmame precoce.