



SAMY BIANCHINI

**ETIOLOGIA DA MASTITE CAPRINA NA REGIÃO DO CARIRI
PARAIBANO**

RECIFE

2008



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

SAMY BIANCHINI

**ETIOLOGIA DA MASTITE CAPRINA NA REGIÃO DO CARIRI
PARAIBANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador:
Prof. Dr. Leonildo Bento Galiza da Silva

RECIFE

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

B577e Bianchini, Samy
 Etiologia da mastite caprina na região do cariri paraibano /
 Samy Bianchini. -- 2008.
 44 f. : il.

 Orientador : Leonildo Bento Galiza da Silva
 Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universi –
 dade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Medicina
 Veterinária.
 Inclui bibliografia.

CDD 636.390 896

1. Cabra
 2. Leite
 3. Glândula mamária
- I. Silva, Leonildo Bento Galiza da
 - II. Título



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**ETIOLOGIA DA MASTITE CAPRINA NA REGIÃO DO CARIRI
PARAIBANO**

Dissertação elaborada por
SAMÝ BIANCHINI

Aprovada em 28/02/2008

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. LEONILDO BENTO GALIZA DA SILVA
Orientador – Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. RINALDO APARECIDO MOTA
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof.^a Dr.^a MARIA JOSÉ DE SENA
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof.^a Dr.^a ANDRÉA PAIVA BOTELHO LAPENDA DE MOURA
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por me acompanhar, guiando e iluminando meu caminho.

À minha querida mãe, sem a qual eu não estaria aqui hoje e, apesar das dificuldades enfrentadas, sempre procurou fazer o melhor possível, me conduzindo por caminhos que levam à responsabilidade e determinação.

A todos da minha família, em especial meus avós, meu irmão e Carlos, que apesar da distância física, sempre me incentivaram e apoiaram, sendo presença constante em meus pensamentos.

Ao meu orientador e amigo, Leonildo Bento Bento Galiza da Silva, pelo apoio e confiança em mim depositada.

A todos do Laboratório de Bacterioses da UFRPE, que colaboraram direta ou indiretamente no processamento das amostras, em especial à Beth, Alonso e João.

Ao Laboratório de Vacinas e Diagnósticos da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária da UFCG - Campus Patos e ao Laboratório de Víruses da UFRPE, em especial à Edísio Azevedo e Ana Cláudia Campos, pela imensurável ajuda.

Aos professores do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE pelo conhecimento e atenção disponibilizados, sempre. Em especial à Maria José de Sena, Paulo Fernandes de Lima, Marcos Antônio Lemos de Oliveira, Áurea Wischral, Márcia Brayner Paes Barreto, Fernando Leandro dos Santos e Maria Cristina Coelho, pela constante orientação, sendo muito mais que professores...

Aos companheiros de trabalho e amigos Doralice Falcão, Mariana Calado e José Ricardo, por me acolherem em suas casas e me auxiliarem durante as coletas, sendo fundamentais na concretização desse sonho.

À Dalva, Aderaldo e Wellington, por me receberem tão bem e ao Centro de Desenvolvimento da Ovino-caprinocultura - CENDOV, pelo apoio financeiro, sendo fundamentais na execução deste trabalho.

A todos da Gerência Executiva de Defesa Agropecuária e da Gerência Operacional de Defesa Animal da Paraíba, em especial à Dr. Ricardo de Miranda Henriques Leite e Dra. Midian de Sousa Conserva, pela compreensão.

Às companheiras de trabalho e amigas Mariana Pereira, Maria Leonilda e Éricka Albuquerque pela amizade e carinho.

Às amigas Marília Andrade e Tatiani Lira, pelo apoio incondicional e pela ajuda em todos os momentos, sempre se preocupando comigo e me fortalecendo quando as forças estavam acabando...

Ao amigo Leonardo Rodrigues, pelo simples fato de ser amigo... Fazendo-se presente mesmo quando está longe.

À Moacir Bezerra, Edmilson Oliveira, Mariana Gomes, Naraiana Araújo, Verônica Borba e Luis Rennan, pela amizade e carinho durante todos esses anos de convivência.

Às amigas Roberta Beltrão, Ana Valença, Flávia Valença, Carla Valença, Cynara Rodrigues e Alecksandra Araújo... Por todos os momentos inesquecíveis que compartilhamos.

Aos “Danda” (Sr. Edilson, Verônica, Karina e Thiago) por me acolherem e ampararem... Estando sempre dispostos a ajudar no que fosse necessário.

Aos colegas de turma do mestrado, por compartilharem comigo ótimos momentos de descontração... E de estresse também!

À Shirley Albino e Paula Sobral, vizinhas e amigas em João Pessoa, pela excelente companhia.

À Joanna, Alcir, Dona Sônia, Renato, Carminha e Betânia, pelo carinho durante todos esses anos.

Aos que não foram citados, mas sabem que merecem estar aqui.

À todos, minha eterna gratidão, pois sem vocês eu não seria quem sou e não teria chegado aonde cheguei... Meu sincero MUITO OBRIGADA!!!

"Ando devagar porque já tive pressa
E levo esse sorriso porque já chorei demais.
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe...
Eu só levo a certeza de que muito pouco eu sei,
eu nada sei...
Conhecer as manhas e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs.
É preciso amor para poder pulsar,
É preciso paz para poder sorrir,
É preciso chuva para florir.
Penso que cumprir a vida seja simplesmente
Compreender a marcha e ir tocando em frente.
Como um velho boiadeiro levando a boiada,
Eu vou tocando os dias pela longa estrada eu vou,
Estrada eu sou...
Todo mundo ama um dia, todo mundo chora,
Um dia a gente chega, no outro vai embora.
Cada um de nós compõe a sua própria história
E cada ser em si carrega o dom de ser capaz...
De ser feliz".

(Almir Sater e Renato Teixeira)

ETIOLOGIA DA MASTITE CAPRINA NA REGIÃO DO CARIRI PARAIBANO

RESUMO: A mastite é a principal enfermidade em rebanhos leiteiros de todo o mundo por constituir-se em um problema de saúde pública, além de acarretar grandes perdas econômicas, fazendo-se necessário conhecer os agentes etiológicos das mastites clínicas e subclínicas de cada região para adoção de medidas higiênicas adequadas e controle da doença. Com o objetivo de estimar a frequência da mastite caprina e de identificar os principais agentes etiológicos envolvidos na infecção da glândula mamária de cabras leiteiras na Região do Cariri Paraibano, foram examinadas 654 metades mamárias de 327 cabras, provenientes de 15 propriedades. A glândula mamária das cabras em lactação foi examinada e o leite submetido aos testes da caneca telada e do CMT. Nenhuma metade mamária apresentou alteração no exame clínico. Das 654 amostras de leite analisadas, uma (0,15%) apresentou alteração no teste da caneca telada, indicando mastite clínica, e 201 (30,70%) apresentaram algum grau de gelificação (1+, 2+ ou 3+) no teste do CMT, sendo procedida à coleta para lactocultura. Das 201 amostras cultivadas, 45 (22,39%) apresentaram crescimento bacteriano. 6,88% (45/654) das glândulas mamárias examinadas apresentavam mastite subclínica. Na lactocultura, isolou-se *Staphylococcus* spp (84,44%), *Streptococcus* spp (4,44%), *Bacillus* spp. (4,44%), *Micrococcus* spp. (4,44%) e *Bastonete* Gram negativo (2,22%). Conclui-se que a mastite caprina na região do Cariri Paraibano apresenta o mesmo padrão de outras regiões do Brasil e do mundo, tendo o *Staphylococcus* spp. como principal agente causal; e que o CMT pode ser utilizado como teste de triagem da saúde da glândula mamária caprina, mas a lactocultura é o método mais indicado para o diagnóstico da mastite subclínica em cabras leiteiras.

PALAVRAS-CHAVE: glândula mamária, leite, cabra, lactocultura, CMT.

ETIOLOGY GOAT MASTITIS IN THE REGION OF CARIRI PARAIBANO

ABSTRACT: The mastitis is the main disease in milk flocks of the whole world for consisting in a problem of public health, besides causing great economic losses, becoming necessary to know the etiology agents of the clinical and subclinical mastitis of each region for adoption of hygienically measures adjusted and control of the illness. With the aim of esteem the frequency of the goat mastitis and to identify the main involved etiology agents in the infection of the mammary gland of milk goats on the Region of the Cariri Paraibano, 654 mammary halves of 327 goats was examined, from 15 properties. The mammary gland of the goats in lactation was examined and the milk submitted to the tild mug test and CMT test. Of the 654 samples, only one (0,15%) showed alteration in the tild mug test, indicating clinical mastitis, and 201 (30,70%) samples had positive (1+, 2+ or 3+) to the CMT test, being proceeded to the collection for lacto culture. Of the 201 cultivated samples, 45 (22,39%) showed bacterial growth. 6,88% (45/654) of the mammary gland examined had sub clinical mastitis. In the lacto culture, was isolated *Staphylococcus* spp (84,44%), *Streptococcus* spp (4,44%), *Bacillus* spp. (4,44%), *Micrococcus* spp. (4,44%) e *Bastonete* Gram negative (2,22%). It is concluding that goat mastitis on the region of the Cariri has the same characteristics of other regions of Brazil and world, been *Staphylococcus* spp. as the principal agent; and the CMT can be used as triage test, but the lacto culture is the most indicated method to diagnostic of milk goat sub clinical mastitis.

KEY WORD: mammary gland, milk, goat, lactoculture, CMT.

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 - Resultado dos exames caneca telada, CMT e lactocultura em amostras de leite de cabras na Região do Cariri Paraibano. Janeiro a Outubro de 2007.....	36
Tabela 2 - Resultado do CMT em amostras de leite de cabras na Região do Cariri Paraibano. Janeiro a Outubro de 2007.....	37
Tabela 3 - Percentual de bactérias isoladas do leite de cabras reagentes ao CMT, na Região do Cariri Paraibano. Janeiro a Outubro de 2007.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

CAE - Artrite encefalite caprina

CAEV - Vírus da Artrite encefalite caprina

CCS - Contagem de células somáticas

CMT - Califórnia Mastitis Test

DNA - Ácido desoxirribonucléico

IDGA – Imunodifusão em gel de agar

M. - Mycoplasma

UFMG - Universidade Federal de Campina Grande

UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco

WM - Whiteside Modificado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 Mastite.....	15
3.2. Epidemiologia.....	15
3.3. Classificação.....	16
3.4. Etiologia.....	17
3.5. Células somáticas.....	18
3.6. Diagnóstico.....	19
3.7. Profilaxia e controle.....	21
3.8. Tratamento.....	22
4. REFERÊNCIAS.....	23
5. ARTIGO CIENTÍFICO.....	31
FREQUÊNCIA E ETIOLOGIA DA MASTITE CAPRINA NA REGIÃO DO CARIRI PARAIBANO.....	32

1. INTRODUÇÃO

A caprino-ovinocultura é de fundamental importância do ponto de vista sócio-econômico, visto que os caprinos e ovinos representam uma das principais fontes de proteína para a alimentação humana, especialmente para a população rural de baixa renda (VIEIRA et al., 1997).

A região Nordeste do Brasil concentra mais de 9,5 milhões de caprinos, o que corresponde a aproximadamente 93% do rebanho nacional (IBGE, 2005). Isso comprova sua acentuada importância sócio-econômica na região, porém, diversos trabalhos têm ressaltado o baixo desempenho produtivo dessa espécie devido às práticas de manejo inadequadas, com relação principalmente aos aspectos sanitários (SIMPLÍCIO et al., 1981; AZEVEDO, 1982).

A espécie caprina tem potencialidades para contribuir, significativamente, para o aumento da disponibilidade de produtos de origem animal (SIMPLÍCIO et al., 2001), necessitando, no entanto, da organização do setor produtivo e da adoção de tecnologias que possam contribuir para o incremento da produtividade dos rebanhos (SIMPLÍCIO et al., 2002).

Araújo et al. (1999) afirmam que no semi-árido brasileiro, a caprinocultura caracteriza-se, em sua maioria, como uma atividade de subsistência, com sistema de produção predominantemente extrativista, cuja finalidade primordial é a obtenção de alimento para o homem da região da caatinga. No entanto, devido à ampliação da procura dos seus produtos, esta atividade vem se desenvolvendo muito nos últimos anos, com criações que têm se tornado cada vez mais profissionalizadas, preocupando-se com a viabilidade econômica por meio do aumento da eficiência na produção (SIMPLÍCIO et al., 2001).

A caprinocultura destinada à exploração leiteira tem apresentado grande perspectiva econômica no Brasil, consolidando-se como atividade rentável e despertando o interesse de muitos produtores rurais (GONÇALVES et al., 2002). Tal fato é decorrente da utilização do leite de cabra na fabricação de queijos finos (GUIMARÃES et al., 1989) e como opção para alimentação de populações de baixa renda (BARCELLOS et al., 1987).

Segundo Gonçalves (2002), a caprinocultura leiteira tomou grande impulso a partir da proibição da importação de queijos de cabra e da divulgação de vários estudos

nutricionais, demonstrando que crianças alérgicas ao leite de vaca não apresentavam alergia ao leite de cabra.

O leite caprino ocupa lugar de destaque dentre os alimentos de origem animal com destino ao consumo humano devido ao seu alto valor nutritivo (EGITO e PINHEIRO, 1989). Por sua alta digestibilidade, vem sendo indicado na alimentação de idosos, crianças e pessoas debilitadas (FURTADO, 1981; BARROS e LEITÃO, 1992; GERMANO e GERMANO, 2003).

O leite é um alimento de grande valor nutritivo, fornecendo ao homem macro e micronutrientes indispensáveis ao seu crescimento, desenvolvimento e manutenção da saúde (GURR, 1992). Como fonte de proteínas, lipídeos, carboidratos, minerais e vitaminas, é também um excelente meio para o crescimento de vários grupos de microrganismos desejáveis e indesejáveis (OLIVEIRA, 2003). Estes germes contaminantes podem causar defeitos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais, limitando a vida de prateleira do leite e seus derivados (ZADOW, 1989).

Com o incremento da produção do leite de cabra, assumem importância os estudos relacionados às afecções da glândula mamária (GUIMARÃES et al., 1989).

A mastite é uma das enfermidades de maior importância para Medicina Veterinária por constituir-se em um problema de saúde pública, além de ser a principal enfermidade em rebanhos leiteiros de todo o mundo. Do ponto de vista sócio-econômico, onera sensivelmente os custos de produção devido ao gasto com medicamentos e mão de obra, descarte de leite, diminuição na produção leiteira e morte dos animais. Portanto, este estudo contribuirá para auxiliar no controle e prevenção desta enfermidade, minimizando as perdas econômicas causadas pela mastite em rebanhos caprinos leiteiros.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Estudar a etiologia da mastite em cabras leiteiras na Região do Cariri Paraibano.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar as alterações da glândula mamária mediante exame clínico;
- Identificar os animais com mastite clínica e subclínica através dos testes da caneca telada, Califórnia Mastitis Test (CMT) e lactocultura;
- Identificar os principais agentes etiológicos da mastite clínica e subclínica.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Mastite

As mastites são processos inflamatórios primários ou secundários da glândula mamária (COSTA, 1998), podendo ser de origem infecciosa ou não, apresentando aumento de leucócitos no leite proveniente da glândula afetada (GERMANO e GERMANO, 2003; LADEIRA, 2007). Caracterizam-se por alterações físicas, químicas e bacteriológicas do leite, além de lesões macro e microscópicas do tecido glandular (LANGONI, 1996; LADEIRA, 2007).

Pode ser classificada quanto à forma de apresentação em clínica e subclínica e quanto à forma de transmissão, em primária (contagiosa) e secundária (ambiental) (MENDONÇA et al., 1999).

3.2. Epidemiologia

Um dos fatores contribuintes para a alta incidência e severidade das patologias da glândula mamária, especialmente mastite, é o melhoramento das raças com intuito de aumentar a produção leiteira (SMITH e ROGUINSKY, 1977). Fatores predisponentes como manejo e higiene deficiente, alta atividade do úbere, ferimentos nas tetas e defeitos na ordenhadeira mecânica favorecem a entrada de agentes infecciosos no úbere (ABU-SAMRA et al., 1988; HAMMAN e EITAN, 1993; GERMANO e GERMANO, 2003; LADEIRA, 2007).

Em pequenos ruminantes, principalmente em cabras exploradas para a produção de leite, a mastite é um grave problema (MORAGA et al., 1974), tanto por aumentar os custos da produção quanto pelos riscos à saúde pública (PERRIN et al., 1997), através da veiculação de agentes patogênicos presentes no leite contaminado (SMITH E ROGUINSKY, 1977). O leite cru e o queijo representam os principais veículos de infecção para o homem, transmitindo-lhes uma série de doenças (LANGONI, 1996).

Do ponto de vista econômico, é considerada a principal enfermidade em rebanhos leiteiros, sendo as perdas econômicas resultantes do descarte do leite, morte precoce dos animais, custos com drogas, serviço veterinário, aumento da mão-de-obra e redução da quantidade e qualidade do leite e produtos lácteos manufaturados (MOTA, 1999; FREITAS et al., 2005; CUNHA et al., 2006).

Esta enfermidade possui epidemiologia abrangente, etiologia variada e apresenta controle complexo na dependência dos agentes envolvidos e do meio ambiente no qual os animais são criados (LANGONI e FONSECA, 1997).

A mastite em cabras ocorre em todo o mundo e aumenta de importância à medida que se intensifica a criação. Ocorre em todas as raças, sendo que em cabras mais velhas e/ou na fase final de lactação, o leite apresenta níveis mais elevados de células somáticas (MANUAL MERCK, 1997).

3.3. Classificação

Segundo Harmon (1994), as infecções da glândula mamária podem apresentar-se sob duas formas: mastite clínica e subclínica.

Denomina-se mastite clínica os casos da doença em que existem sinais evidentes de manifestação inflamatória, tais como edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor na glândula mamária, além de alterações visíveis nas características do leite, como aparecimento de grumos, pus ou sangue (FONSECA E SANTOS, 2001). É a forma menos freqüente e geralmente ocorre após a parição (LADEIRA, 2007).

A forma subclínica é normalmente a mais prevalente (HARMON, 1994) e de acordo com Lima Júnior et al. (1994), pode variar entre 22 e 75% em rebanhos leiteiros. Caracteriza-se por alterações na composição do leite, como aumento na contagem de células somáticas (CCS), além da ausência de sinais clínicos, tornando-se necessária a utilização de testes auxiliares para o seu diagnóstico (FONSECA e SANTOS, 2001; LADEIRA, 2007).

Langenegger et al. (1981) relatam que a forma subclínica é mais prejudicial que a forma clínica, pela falta de sintomas ou sinais determinando perdas econômicas maiores devido à freqüência de persistência do processo.

A mastite pode ser dividida também quanto ao tipo de agente patogênico causador, podendo ser classificada em contagiosa e ambiental.

Na mastite contagiosa, os agentes etiológicos necessitam do animal para a sobrevivência, pois se multiplicam na glândula mamária, canal do teto ou sobre a pele. A transmissão ocorre de um animal infectado para outro sadio, principalmente durante a ordenha (COSTA, 1998; PRESTES et al., 2003). Fonseca e Santos (2001) afirmam que as mastites contagiosas se caracterizam por apresentar alta incidência de casos subclínicos, tendência a cronicidade e alta contagem de células somáticas, sendo

causadas principalmente pelos patógenos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Corynebacterium bovis*.

Já a mastite ambiental é causada por agentes que vivem preferencialmente no hábitat do animal, em locais que apresentam esterco, urina, barro e matéria orgânica (FREITAS et al., 2005). De acordo com Fonseca e Santos (2001), os patógenos mais comumente envolvidos são coliformes (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* e *Enterobacter sp.*) e *Streptococci* ambientais (*S. uberis* e *S. dysgalactiae*). Este tipo de mastite caracteriza-se por alta incidência de casos clínicos (geralmente de curta duração) e freqüentemente com manifestação aguda, ocorrendo em maior concentração nos momentos do pré e pós-parto imediato (ERSKINE et al., 1988). A infecção ocorre preferencialmente no período entre as ordenhas (COSTA, 1998).

3.4. Etiologia

A etiologia da mastite pode ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica ou infecciosa. Os microrganismos são os agentes etiológicos mais comuns e as bactérias as mais envolvidas (PRESTES et al., 2003; VIANNI e LÁZARO, 2003; FREITAS et al., 2005), destacando-se as bactérias do gênero *Staphylococcus* (COSTA et al., 1995; BRITO et al., 2002; FREITAS et al., 2005; CUNHA et al., 2006).

Dentre os agentes etiológicos identificados na mastite caprina, a maioria é similar aos encontrados na espécie bovina (SILVA et al., 1996), sendo desencadeada na maioria das vezes por bactérias comumente encontradas no meio ambiente (LANGONI, 1996). As mais freqüentemente isoladas são: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella spp.*, *Pseudomonas spp.* (HAMED et al., 1993; CONTRERAS et al., 1995; SANTA ROSA, 1996; WHITE e HINCKLEY, 1999; RIBEIRO et al., 1999; MOTA et al., 2002; CONTRERAS et al., 2003).

Outro importante agente envolvido na mastite caprina é o *Mycoplasma spp.* (SANTA ROSA, 1996; LADEIRA, 2007). As Infecções por *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides* e *Mycoplasma putrefaciens* causam, algumas vezes, sérios surtos de mastites em caprinos (AZEVEDO et al., 2006; AZEVEDO, 2007).

A Artrite Encefalite Caprina (CAE) também pode provocar alterações na glândula mamária, determinando importantes perdas econômicas no rebanho, tais como diminuição na produção leiteira e redução na duração do período de lactação (CASTRO e MELO, 2001).

O conhecimento dos agentes etiológicos das mastites clínica e subclínica de uma determinada região são de suma importância para a adoção de medidas higiênicas adequadas e para o controle da doença, assim como para melhor entender seus aspectos epidemiológicos e patológicos (MOTA et al., 2002).

3.5. Células Somáticas

As células somáticas são constituídas basicamente por leucócitos (células de defesa do organismo) que migram do sangue para o interior da glândula mamária com o objetivo de combater agentes agressores; mas também podem ser células secretoras descamadas, originadas da glândula mamária (MACHADO e SARRIÉS, 2000).

Na espécie caprina ocorre fisiologicamente perda do epitélio alveolar, contribuindo para elevar o número de células somáticas presentes no leite (SMITH E ROGUINSKY, 1977; DULIN et al., 1982; RIBEIRO et al., 1999). Além das células epiteliais, neutrófilos, linfócitos e monócitos, o leite de cabra apresenta grande número de corpúsculos citoplasmáticos, os quais não possuem núcleo e resultam da secreção apócrina da glândula mamária dos caprinos. Os corpúsculos, por não apresentarem núcleo, não reagem ao Califórnia Mastitis Test e, conseqüentemente, não interferem nos resultados do teste (LADEIRA, 2007).

A contagem de células somáticas é usada como indicador de qualidade do leite tanto para vacas quanto para cabras (HAENLEIN, 1996; OSTERAS e LANDER, 1996; HAENLEIN, 2002). Normalmente, a CCS no leite de cabras não infectadas é maior que no leite de vacas não infectadas. A CCS no leite de vacas livres de infecção intramamária é, em geral, inferior a 200.000 células/ml de leite (National Mastitis Council, 1996) e no leite de cabras não infectadas, inferior a 400.000 células/ ml de leite (McDOUGALL et al., 2001).

A CCS mais elevada no leite de cabra é atribuída à maneira como o leite é secretado pela glândula mamária. Na espécie bovina, a glândula mamária é classificada como merócrina, pois somente o produto (leite) sintetizado é secretado. Na espécie caprina, a glândula é classificada como apócrina, sendo o produto de secreção eliminado juntamente com pequena parte da célula (POUTREL e LERONDELLE, 1982; ZENG e ESCOBAR, 1996).

3.6. Diagnóstico

O diagnóstico bacteriológico é a técnica mais específica para detecção da infecção intramamária, no entanto, ainda é um método oneroso para ser realizado em campo (CONTRERAS et al., 1996).

A forma clínica da mastite caprina é facilmente diagnosticada, baseando-se principalmente na presença de sintomas com graus variáveis de inflamação do úbere (calor, rubor, tumefação e dor) e leite visivelmente anormal, podendo variar desde a presença de grumos decorrentes de alterações por depósito de leucócitos, até soro com aglomerado de fibrina na secreção (GUIMARÃES et al., 1989; HIRSH e ZEE, 2003; LADEIRA, 2007).

A identificação da mastite clínica pode ser realizada através da prova da caneca telada ou de fundo escuro (GUIMARÃES et al., 1989), a qual deve ser realizada a cada ordenha nos primeiros jatos de leite. O contraste do fundo negro da caneca com os grumos facilita a visualização de alterações e o diagnóstico precoce (FURLONG e RIBEIRO, 2006).

As mastites subclínicas são responsáveis pelas maiores perdas econômicas na produção leiteira (HARMON, 1994), tornando-se muito importante encontrar uma técnica de diagnóstico eficiente que seja prática e não muito onerosa (MAISI, 1990).

De acordo com Santos et al. (1995) no diagnóstico da mastite subclínica caprina são utilizadas as mesmas metodologias indiretas empregadas para bovinos, como as provas do CMT e Whiteside Modificado (WM). Estas provas fundamentam-se no aumento da contagem de células somáticas (CCS), detectável no leite de animais com processo inflamatório instaurado na glândula mamária (SCHALM et al., 1971).

O CMT, idealizado por Schalm e Noorlander (1957), é mais comumente usado e altamente eficiente em bovinos, refletindo o total de leucócitos e a contagem de polimorfonucleares do leite (BLOOD, 1991). É um teste rápido e de fácil manejo (MORAGA et al., 1974), além de ser amplamente utilizado, tanto no laboratório como no campo (PETTERSEN, 1981; COSTA et al., 1996). Pode ser muito útil para o monitoramento do estado sanitário da glândula mamária, quando não é possível realizar exames laboratoriais específicos em todos os animais da propriedade, devido ao alto custo (PERRIN et al., 1997).

O mecanismo de reação dessa prova baseia-se na liberação do ácido desoxirribonucléico (DNA) do núcleo das células somáticas, destruído por ação da soda e do detergente amniônico, resultando em uma mistura gelatinosa (SCHALM E

NOORLANDER, 1957; PETTERSEN, 1981; SILVA et al., 1996). Após a mistura do leite com o reagente, o resultado é interpretado como reações negativas, traços, 1+, 2+ ou 3+, dependendo da quantidade de formação de gel na amostra (BLOOD, 1991).

Entretanto, existe controvérsia quanto ao uso do CMT em leite caprino (SMITH e ROGUINSKY, 1977; PETTERSEN, 1981), uma vez que as células epiteliais reagem ao CMT juntamente com os leucócitos, causando uma interpretação diferente da usada para bovinos (HUNTER, 1984; GUIMARÃES et al., 1989; PERRIN et al., 1997).

O tipo de patógeno também parece afetar a reação do CMT. Amostras infectadas com *Staphylococcus* coagulase negativa apresentaram reações menores que aquelas infectadas com *Staphylococcus aureus* (LERONDELLE e POUTREL, 1984; RIBEIRO et al, 1999).

A alta CCS no leite de fêmeas caprinas reagentes no CMT, sem isolamento bacteriano, alerta para que os métodos indiretos de diagnóstico de mastite subclínica bovina sejam aplicados com critérios diferenciados em caprinos para minimizar reações falso-positivas (RIBEIRO et al., 1999; SANTOS, 2004; LADEIRA, 2007).

Resultados positivos no CMT devem ser interpretados com bastante cuidado, principalmente em cabras com baixa produção de leite ou no final da lactação (PERRIN et al., 1997). A baixa produção, a idade e o estágio de lactação são fatores a considerar em mastite caprina, quando se usa o CMT (SANTOS, 2004).

Schalm et al. (1971) verificaram que cabras sem mastite podem apresentar no CMT reações com traços ou 1+. Por outro lado, 2+ e 3+ podem ser importantes indicativos de infecção intramamária no meio do período de lactação de cabras (SILVA et al., 1996; SANTOS, 2004). Smith e Roguinsky (1977) e Pettersen (1981) sugerem a interpretação de reações positivas para o CMT em caprinos com escores iguais ou superiores a 2+.

Um baixo escore do CMT tem sido sugerido como bom indicador de ausência de infecção intramamária em cabras, entretanto, um alto escore nem sempre indica infecção nesta espécie animal (LEWTER et al., 1984; PERRIN et al., 1997).

Segundo Corrêa e Corrêa (1992) e Santos (2004) devem ser utilizados testes microbiológicos para a detecção da enfermidade, sendo o cultivo o único método que revela o agente etiológico específico.

3.7. Profilaxia e controle

A mastite é a doença que mais causa perdas econômicas para a indústria leiteira e é considerada de impossível erradicação, porém, passível de controle (PYORALA, 2002; PRESTES et al., 2003).

As instalações e equipamentos devem ser constantemente higienizados. Deve-se utilizar o teste do CMT quinzenalmente e examinar periodicamente as glândulas mamárias, eliminando os animais com defeitos congênitos e que apresentem mastite crônica, com fibrose do tecido glandular. Os ordenhadores devem lavar bem as mãos e o úbere dos animais com água e desinfetante antes de cada ordenha, utilizando papel toalha para enxugar (LADEIRA, 2007).

Os animais com diagnóstico de mastite devem ser colocados em último lugar na linha de ordenha, o leite deve ser descartado para o consumo humano respeitando-se o limite mínimo predeterminado para a eliminação dos antibióticos, deve-se esgotar os animais manualmente e realizar pré e pós "dipping" com produtos anti-sépticos adequados (SMITH e SHERMAN, 1994).

A taxa de novas infecções intramamárias está diretamente relacionada com o número de microorganismos causadores de mastite presentes na pele dos tetos. Sendo assim, a imersão dos tetos em produtos desinfetantes, elimina a grande maioria dos patógenos e reduz os riscos de as bactérias terem acesso à glândula mamária (FONSECA e SANTOS, 2001).

O pré "dipping" pode determinar redução de até 80% na contagem bacteriana total no leite e de até 70% na contagem de coliformes (GALTON et al., 1984). Reduz também a quantidade de bactérias psicrófilas no leite, visto que a principal fonte destes microorganismos é a superfície dos tetos (OLIVEIRA, 2003).

O objetivo do pós "dipping" é reduzir a contaminação após a ordenha, pois o principal mecanismo de transmissão da mastite contagiosa é a colonização da pele do teto. A utilização do pós "dipping" pode determinar redução de mais de 50% dos novos casos de mastite contagiosa. Dessa forma, tanto o pré quanto o pós "dipping" são medidas necessárias para melhorar a qualidade do leite e prevenir infecções mamárias devendo-se realizar a imersão completa dos tetos (FONSECA e SANTOS, 2001).

Os princípios ativos mais utilizados para desinfecção dos tetos são iodo, clorexidina, ácido sulfônico, cloro, peróxidos, lauridina e ácido cloroso. Objetivando diminuir a irritação e condicionar a pele dos tetos, são utilizadas algumas bases e emolientes na formulação desses germicidas, como a glicerina, lanolina,

propilenoglicol, sorbitol, óleos vegetais, minerais e colágeno (FONSECA e SANTOS, 2001).

3.8. Tratamento

Devido a grande diversidade de agentes patogênicos envolvidos na etiologia das mastites, o ideal é que sejam feitos cultivo, isolamento e antibiograma para a melhor indicação terapêutica; uma vez que o emprego exagerado e indiscriminado de antibióticos conduz a resistência bacteriana (CONTRERAS et al., 1995; LANGONI, 1996; MOTA et al, 2002; GERMANO E GERMANO, 2003; LADEIRA, 2007).

O tratamento deve ser feito o mais rápido possível e, quando não for possível o isolamento e a realização do antibiograma, deve-se utilizar antibióticos de largo espectro. A aplicação do medicamento deve ser feita por via intramamária e, em alguns casos, via intramuscular (LADEIRA, 2007).

4. REFERÊNCIAS

- ABU-SAMRA, M.T. et al. Gangrenous mastitis in goats. **Cornell Veterinary Medicine**. v.78, n.3, p.281-300. 1988.
- ARAÚJO, A. M. et al. Desempenho produtivo de cabras leiteiras Anglo-nubiana, Pardo alpina e Saanen no semi-árido nordestino. **Revista Ciência Veterinária nos Trópicos**. Recife-PE. v.2, n.1, p.29-34, jan/abril. 1999.
- AZEVEDO, C. F. Criação de caprinos e ovinos no Nordeste. Natal, EMPARN. **Boletim Técnico**, n.12. 1982.
- AZEVEDO, E. O. et al. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in goats and sheep in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.576-581. 2006.
- AZEVEDO, E. O. Micoplasmoses em ruminantes. In: **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. RIET-CORREA et al. Santa Maria: Pallotti. P.383-393, v.1. 2007.
- BARCELLOS, T. F. S. et al. Mastite caprina em rebanhos próximos à Belo Horizonte - Minas Gerais. I – Etiologia e sensibilidade a antibióticos. II – Métodos de diagnóstico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.39, p.307-315. 1987.
- BARROS, G. C.; LEITÃO, C. H. Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.12, n.3/4, p.45-48, 1992.
- BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M.. **Clínica Veterinária**. 7ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap. 15, p. 424 - 463: Mastite. 1991.
- CASTRO, R.S.; MELO, L.E.H. VAEC e maedivisna: importância na saúde e produtividade de caprinos e ovinos e a necessidade de seu controle no nordeste brasileiro. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.4, p.315-320, 2001.

CONTRERAS, A. et al. Prevalence and aetiology of non-clinical intramammary infection in Murciano-Granadina goats. **Small Ruminant Research**, v.17, p.71–78, 1995.

CONTRERAS, A. et al. Physiological threshold of somatic cell count and California Mastitis Test for diagnosis of caprine subclinical mastitis. **Small Ruminant Research**, v.21, p.259-264, 1996.

CONTRERAS, A. et al. The role of intramammary pathogens in dairy goats. **Livestock Production Science**, v.79, p. 273–283, 2003.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos domésticos**. 2ª ed, Rio de Janeiro: Medsi. 1992. 834p.

COSTA, E. O. et al. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 17, p. 156-159, 1995.

COSTA E. O. et al. Mastite bovina: CMT *versus* microbiológico. **Hora Veterinária**, v.15, n. 89, p. 53-54, 1996.

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

CUNHA, A. P. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de agentes contagiosos e ambientais isolados de mastite clínica e subclínica de búfalas. **Arquivo Instituto de Biologia**, São Paulo, v.73, n.1, p.17-21, 2006.

DULIN, A. M., et al. Differentiation and enumeration of somatic cells in goat milk. **Journal of Food Protection**, v.45, p.435-439, 1982.

EGITO, A. S.; PINHEIRO, R. R. Produção higiênica do leite de cabra. Embrapa – CNPC. **Comunicado Técnico**. n.20, 1989. 6p.

ERSKINE, R. J. et al. Incidence and types of clinical mastitis in dairy herds with high and low somatic cells counts. **Journal American Veterinary Medicine Association**, Pennsylvanis, v.6, n.192, p-761-765, 1988.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. 2^a ed., São Paulo: Lemos Editorial, 2001.175p.

FREITAS, M. F. L. et al. Perfil de Sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v. 72, n. 2, p.171-177, 2005.

FURLONG, J.; RIBEIRO, A. C. C. L. Controle da Mastite. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA]. EMBRAPA. 2006. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_71_21720039240.html - Acessado em novembro de 2007.

FURTADO, M. M. Leite de cabra: características especiais e seu uso na alimentação **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v.36, p.31-7, 1981.

GALTON, D. M. et al. Effects of premilking udder preparation on bacterial population, sediment and iodine in milk. **Journal of Dairy Science**. v.67, p.2580-9, 1984.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 2^a ed, São Paulo: Livraria Varela, 2003, 655p.

GONÇALVES, H. C. et al. Parâmetros e tendência genética da produção de leite de cabra no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2204-2208, 2002.

GUIMARÃES, M. P. et al. Caracterização de alguns componentes celulares e físico-químicos do leite para diagnóstico de mastite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.41, n.2, p.129-142, 1989.

GURR, M.I. Health and nutrition aspects of dairy products: An update. **Food Australian**, v.44, n.9, p.421-426, 1992.

HAENLEIN, G.F.W. Status and prospects of the dairy goat industry in the United States. **Journal Animal Science**, v.74, p.1173-1181, 1996.

HAENLEIN, G.F.W. Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. **Small Ruminant Research**, v.45, n.2, p. 163-168, 2002.

HAMED, A. I. et al. Physical and chemical properties of subclinical mastitic sheep's and goat's milk. **Egyptian Journal Dairy Science**, v.21, p.133-149, 1993.

HAMMAN, J.; EITAM, M. Relevance of machine induced teat tissue reaction in cows for improvement of machine milking in small ruminants. **Sheep Dairy News**. v.10, p.29-31, 1993.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.

HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia veterinária**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 446p.

HUNTER, A. C. Microflora and somatic cell content of goat milk. **The Veterinary Record**, v.114, n.13, p.318-320, 1984.

IBGE, Diretoria de pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal, 2005. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br> - Acessado em novembro de 2007.

LADEIRA, S. R. L. Mastite caprina. In: **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. RIET-CORREA et al. Santa Maria: Pallotti. P.373-381, v.1. 2007.

LANGENEGGER, J. et al. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio Grande do Sul, v.1, n.2, p. 47-52, 1981.

LANGONI, H. **Mastites**. Apostila da disciplina de Zoonoses da FMVZ - UNESP - Botucatu, 1996.

LANGONI, H.; FONSECA, P. H. P. Participação da *Listeria monocytogenes* na mastite bovina, importância para a saúde pública. **Higiene alimentar**, v.2, n.50, p. 36-38, 1997.

LERONDELLE, C.; POUTREL, B. Characteristics of non-clinical mammary infections of goats. **Annales recherches Veterinaire**, v.15, n.1, p.105-112, 1984.

LEWTER, M. M. et al. Mastitis in goats. **The Compendium Continuing Education**, v.6, n.7, p.417-425, 1984.

LIMA JÚNIOR, A. D. et al. Estudo comparativo entre algumas características físico-químicas, celulares e bacteriológicas do leite de cabras reagentes e negativas ao California Mastitis Test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.46, n.3, p. 290-300, 1994.

MACHADO, P. F.; SARRIÉS, A. R. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agrícola**, v.57, n.2, p. 357-360, abr/jun, 2000.

MAISI, P. Analysis of physiological changes in caprine milk with CMT, NAGase and antitrypsin. **Small Ruminant Research**, v.3, p.485-492, 1990.

MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA. Editora Roca Multimídia, 7ª edição. p.837-838. 1997.

McDOUGALL, S. et al. Relationships among somatic cell count, califórnia mastitis test, impedance and bacterial status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small Ruminant Research**, v.40, n.3, p.245-254, 2001.

MENDONÇA, C. L. et al. Etiologia da mastite bovina. **Veterinária Notícias**, v. 5, n. 1, p. 107-118, 1999.

MORAGA, L. et al. Contribucion al estudio de la mastitis del caprino. **Revista de la Sociedad Medicina Veterinária del Chile**. v. 24 , n.1, p. 5-10, 1974.

MOTA, R. A. Mastite caprina: prevalência de agentes infecciosos envolvidos no estado de Pernambuco e indicações terapêuticas. In: Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, Recife-PE. **Anais...**p.129-132, 1999.

MOTA, R. A. et al. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da Região Metropolitana do Recife - PE. IV Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, Recife-PE. **Anais...** p.233-235, 2002.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Current concepts of bovine mastitis. 4 ed. Madison: National Mastitis Council, 1996. 64p.

OLIVEIRA, C. A. F. Qualidade do leite no processamento de derivados. In: **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 2ª ed, São Paulo: Livraria Varela, p.91-102. 2003.

OSTERAS, O.; LUNDER, T. Bulk milk somática cell count in goat milk. **Mastitis Newsletter**, v.21, p.23-25, 1996.

PERRIN, G. G. et al. Relationships between California Mastitis Test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.26, n.1-2, p.167-170, 1997.

PETTERSEN, K. E. Cell content in goat's milk. **Acta Veterinary Scandinavia**, v.22, n.2, p.226-237, 1981.

POUTREL, B.; LERONDELLE, C. Cell count of goat milk: Califórnia mastitis test, coulter counter and fotossomatic for predicting half infection. **Journal Dairy Science**, v.66, n.12, p.2575-2579, 1982.

PRESTES, D. S. et al. Suscetibilidade à mastite: Fatores que a influenciam - uma revisão. **Revista Faculdade Zootecnia Veterinária e Agronomia**, Araguaiana, v.9, n.1, p-48-59, 2003.

PYORALA, S. New strategies to prevent mastitis. **Reproduction in Domestic Animals**, Belfast, v.37, n.4, p.211-216, 2002.

RIBEIRO, M. G. et al. Mastite caprina: Estudo microbiológico, físico-químico e do diagnóstico através de provas indiretas. **Biológico**, São Paulo, v.61, n.1, p.27-33, jan/jun., 1999.

SANTA ROSA, J. **Enfermidades em caprinos: Diagnóstico, Patogenia, Terapêutica e Controle**. Brasília: Embrapa-SPI / Sobral: Embrapa-CNPC. p.64-66. 1996.

SANTOS, L. E. et al. Califórnia Mastitis Test e Whiteside Modificado como critério de triagem para mastite caprina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, p.295-298, 1995.

SANTOS, L.P. Caprinos e Ovinos: informações importantes. Natal: SEBRAE/RN, 2004. 43 p.

SCHALM, O. W. et al. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea e Febiger, cap.11, p.249-282. 1971.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.130, n.5, 1957.

SILVA, E. R. et al. Contagem de células somáticas e califórnia mastitis test no diagnóstico da mastite caprina subclínica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 18, n.2, p.78-83, mar/abr., 1996.

SIMPLÍCIO, A. A. et al. **Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos de corte em regiões tropicais**. Sobral: Embrapa Caprinos-CNPC, 2001. 47p.

SIMPLÍCIO, A. A. et al. **Puberdade em fêmeas ovinas da raça Somalis**. Sobral: Embrapa Caprinos - CNPC, 1981.

SIMPLÍCIO, A. A. et al. Transferência de embriões nos pequenos ruminantes domésticos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, supl.5, out., 2002.

SMITH, M. C.; ROGUINSKY, M. Mastitis and other diseases of the goats udder. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.171, p.1241-1248, 1977.

SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. **Goat medicine**. Philadelphia: Lea e Febiger. 1994. 620p.

VIANNI, M. C. E.; LÁZARO, N. S. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos gram-positivos, catalase negativos, isoladas de mastite subclínica bubalina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro. v. 23, n. 2, p.1-6, 2003.

VIEIRA, L. S. et al. **Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi-áridas do Nordeste**. Sobral: Embrapa Caprinos-CNPC, 1997, 50p.

WHITE, E. C.; HINCKLEY, L. S. Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.33, p.117-121, 1999.

ZADOW, J.G. Extending the shelf life of dairy products. **Food Australian**, v.41, n.9, p.935-937, 1989.

ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N. Comparision of goat milk standards with cow milk standards for analyses of somatic cell count, fat and protein in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.21, n.3, p.221-225, 1996.

FREQUÊNCIA E ETIOLOGIA DA MASTITE CAPRINA NA REGIÃO DO CARIRI PARAIBANO

Samy BIANCHINI¹, Leonildo Bento Galiza da SILVA²,

Alonso Pereira SILVA³, João Carlos Oliveira LIMA³, Doralice Pereira FALCÃO¹

RESUMO: Com o objetivo de estimar a frequência da mastite caprina e de identificar os principais agentes etiológicos envolvidos na infecção da glândula mamária de cabras leiteiras na Região do Cariri Paraibano, foram examinadas 654 metades mamárias de 327 cabras, provenientes de 15 propriedades. A glândula mamária das cabras em lactação foi examinada e o leite submetido aos testes da caneca telada e do CMT. Nenhuma metade mamária apresentou alteração no exame clínico. Das 654 amostras de leite analisadas, uma (0,15%) apresentou alteração no teste da caneca telada, indicando mastite clínica, e 201 (30,70%) apresentaram algum grau de gelificação (1+, 2+ ou 3+) no teste do CMT, sendo procedida à coleta para lactocultura. Das 201 amostras cultivadas, 45 (22,39%) apresentaram crescimento bacteriano. 6,88% (45/654) das glândulas mamárias examinadas apresentavam mastite subclínica. Na lactocultura, isolou-se *Staphylococcus* spp (84,44%), *Streptococcus* spp (4,44%), *Bacillus* spp. (4,44%), *Micrococcus* spp. (4,44%) e *Bastonete* Gram negativo (2,22%). Conclui-se que a mastite caprina na região do Cariri Paraibano apresenta o mesmo padrão de outras regiões do Brasil e do mundo, tendo o *Staphylococcus* spp. como principal agente causal; e que o CMT pode ser utilizado como teste de triagem da saúde da glândula mamária caprina, mas a lactocultura é o método mais indicado para o diagnóstico da mastite subclínica em cabras leiteiras.

PALAVRAS-CHAVE: glândula mamária, leite, cabra, lactocultura, CMT.

¹ Médica Veterinária, aluna do mestrado do programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária. da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). R. Dom Manoel de Medeiros, s/n. Dois Irmãos. CEP: 52171-900. Recife-PE. Email: samy_bianchini@yahoo.com.br

² Médico Veterinário, Doutor, Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, Recife-PE.

³ Alunos da graduação do curso de Medicina Veterinária da UFRPE.

FREQUENCY AND ETIOLOGY OF GOAT MASTITIS ON THE REGION OF CARIRI PARAIBANO

ABSTRACT: With the aim of esteem the frequency of the goat mastitis and to identify the main involved etiology agents in the infection of the mammary gland of milk goats on the Region of the Cariri Paraibano, 654 mammary halves of 327 goats was examined, from 15 properties. The mammary gland of the goats in lactation was examined and the milk submitted to the tild mug test and CMT test. Of the 654 samples, only one (0,15%) showed alteration in the tild mug test, indicating clinical mastitis, and 201 (30,70%) samples had positive (1+, 2+ or 3+) to the CMT test, being proceeded to the collection for lacto culture. Of the 201 cultivated samples, 45 (22,39%) showed bacterial growth. 6,88% (45/654) of the mammary gland examined had sub clinical mastitis. In the lacto culture, was isolated *Staphylococcus* spp (84,44%), *Streptococcus* spp (4,44%), *Bacillus* spp. (4,44%), *Micrococcus* spp. (4,44%) e *Bastonete* Gram negative (2,22%). It is concluding that goat mastitis on the region of the Cariri has the same characteristics of other regions of Brazil and world, been *Staphylococcus* spp. as the principal agent; and the CMT can be used as triage test, but the lacto culture is the most indicated method to diagnostic of milk goat sub clinical mastitis.

KEY WORD: mammary gland, milk, goat, lactoculture, CMT.

INTRODUÇÃO

A caprinocultura destinada à exploração leiteira tem apresentado grande perspectiva econômica no Brasil e, com o incremento da produção do leite de cabra, assumem importância os estudos relacionados a afecções da glândula mamária (GUIMARÃES et al., 1989).

Dentre as doenças que acometem o rebanho leiteiro e comprometem a qualidade do leite, a mastite ocupa lugar de destaque por possuir importância econômica e para a saúde pública (SILVA et al., 2001). Apesar de ser a doença mais importante em termos econômicos para a indústria leiteira, é difícil de ser controlada (PYORALA, 2002).

A mastite é o processo inflamatório da glândula mamária, podendo ser de origem infecciosa ou não (COSTA, 1998; GERMANO e GERMANO, 2003; LADEIRA, 2007).

Possui epidemiologia abrangente, etiologia variada e apresenta controle complexo na dependência dos agentes envolvidos e do meio ambiente no qual os animais são criados (LANGONI E FONSECA, 1997). Pode apresentar-se sob as formas clínica e subclínica, caracterizando-se por alterações química, física, patológica e bacteriológica do tecido glandular e do leite (DAMASSA, 1983; ABU-SAMRA et al., 1988; LADEIRA, 2007)

As causas predisponentes da enfermidade são alta atividade do úbere, retenção de leite, ferimentos externos, máquinas de ordenha defeituosas e falta de higiene nas mãos do ordenhador, com a sala de ordenha e os animais (ABU-SAMRA et al., 1988; HAMMAN e EITAM, 1993; SANTOS, 2004; LADEIRA, 2007),

Diferentes microrganismos têm sido associados à etiologia da mastite caprina, incluindo *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Micrococcus spp.*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Bacillus spp.* (CORREA e CORREA, 1992; HAMED et al., 1993; SANTA ROSA, 1996; RIBEIRO et al., 1999; WHITE e HINCKLEY, 1999; MOTA et al., 2002; CONTRERAS et al., 2003; CONTRERAS et al., 2007; LADEIRA, 2007).

O conhecimento dos agentes etiológicos das mastites de uma determinada região é de suma importância para a adoção de medidas higiênicas adequadas e para o controle da doença, assim como para melhor entender seus aspectos epidemiológicos e patológicos (MOTA et al, 2002).

Objetivou-se com este trabalho estimar a frequência da mastite e identificar os principais agentes etiológicos causadores desta enfermidade em cabras leiteiras da Região do Cariri Paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 327 animais, totalizando 654 metades mamárias de fêmeas caprinas das raças Saanen, Pardo Alpina e Anglo Nubiana, apresentando idade variada e em diversos estágios da lactação, no período compreendido entre janeiro a outubro de 2007. Os animais eram provenientes de 15 criações leiteiras, localizadas em 5 municípios da Região do Cariri, situada no semi-árido paraibano.

O leite dos animais foi submetido ao exame da caneca telada ou de fundo escuro para diagnóstico de mastite clínica e ao California Mastitis Test (CMT) para estimar o número de células somáticas, segundo Schalm e Noorlander (1957). Foi considerada positiva no teste da caneca telada a amostra que apresentou leite com coágulos, sangue ou pus (RIBEIRO et al., 2003). Para realização do teste CMT, foi adicionado ao reagente 2ml de leite de cada metade mamária, com o auxílio de uma bandeja. A leitura foi realizada na mistura, após movimentos giratórios lentos e o resultado foi interpretado como reação negativa, 1+, 2+ ou 3+, dependendo da quantidade de formação de gel na amostra (CORRÊA e CORRÊA, 1992).

Das cabras que apresentaram alteração no exame da caneca telada e/ou ocorrência de gelificação (1+, 2+ ou 3+) no CMT, foi coletado assepticamente um volume aproximado de 5ml de leite. As amostras foram encaminhadas sob refrigeração ao Laboratório de Doenças Infecto-Contagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde foram cultivadas em ágar base enriquecido com 8% de sangue ovino, sendo incubadas em estufa bacteriológica a 37°C em aerobiose, realizando-se leituras após 24 e 48 horas de incubação.

Para identificação dos agentes bacterianos, foram observadas as características morfotintoriais das colônias através da técnica de coloração de Gram, além da realização de provas bioquímicas e taxonômicas, de acordo com Quinn et al. (1994).

Os dados relativos às frequências absoluta e relativa foram registrados em protocolos individuais e submetidos à estatística descritiva básica (SAMPAIO, 1988).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi constatada nenhuma alteração na glândula mamária mediante o exame clínico das 327 cabras. De acordo com a tabela 1, verificou-se que das 654 amostras de leite analisadas, uma (0,15%) apresentou alteração no teste da caneca telada (indicando mastite clínica) e 201 (30,7%) apresentaram algum grau de gelificação no CMT. Das 201 amostras de leite cultivadas, observou-se crescimento bacteriano na lactocultura em 45 (22,39%), indicando que 6,88% (45/654) das glândulas mamárias examinadas apresentavam mastite subclínica.

Tabela 1: Resultado dos exames caneca telada, CMT e lactocultura em amostras de leite de cabras na Região do Cariri Paraibano. Janeiro a Outubro de 2007

	CANECA TELADA		CMT		ISOLAMENTO BACTERIANO	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
POSITIVO	1	0,15	201	30,70	45	22,39
NEGATIVO	653	99,85	453	69,30	156	77,61
TOTAL	654	100,00	654	100,00	201	100,00

Nº: número de amostras; %: Percentual.

Estes resultados corroboram com Harmon (1994), que cita que a forma subclínica da mastite é normalmente a mais prevalente. Lima Júnior (1994) cita que a prevalência da mastite subclínica pode variar entre 22 e 75% em rebanhos leiteiros e Contreras et al. (2003) afirmam que a prevalência pode ser estimada de 5-30% do rebanho, podendo atingir percentuais maiores. Barcellos et al. (1987), em estudos realizados em regiões próximas à Belo Horizonte, Minas Gerais, relataram prevalência de 25,5% de amostras de leite de cabras positivas ao CMT.

69,30% das amostras de leite não apresentaram reação de gelificação quando submetidas ao CMT (Tabela 2). Das amostras que reagiram em uma, duas ou três cruzes, observou-se que a reação 1+ foi a mais freqüente (17,00%). Conforme demonstrado na tabela 1, 77,61% (156/201) das amostras de leite reagentes em diferentes graus no CMT não apresentaram isolamento bacteriano na lactocultura.

Tabela 2: Resultado do CMT em amostras de leite de cabras na Região do Cariri Paraibano. Janeiro a Outubro de 2007

RESULTADO CMT		
	Nº	%
Negativo	453	69,30
1+	111	17,00
2+	44	6,70
3+	46	7,00
TOTAL	654	100,00

Nº: número de amostras; %: Percentual.

A alta CCS no leite de fêmeas caprinas reagentes no CMT, sem isolamento bacteriano, alerta para que os métodos indiretos de diagnóstico de mastite subclínica bovina sejam aplicados com critérios diferenciados em caprinos para minimizar reações falso-positivas (RIBEIRO et al., 1999; SANTOS, 2004; LADEIRA, 2007).

Um dos fatores que contribui para o aumento do número de células somáticas no leite de cabras é a perda do epitélio alveolar, que ocorre fisiologicamente (SMITH E ROGUINSKY, 1977; DULIN et al., 1982; RIBEIRO et al., 1999), devido à glândula mamária da espécie caprina ser classificada como apócrina, sendo o produto de secreção (leite) eliminado juntamente com pequena parte da célula (POUTREL e LERONDELLE, 1982; ZENG e ESCOBAR, 1996).

Além disso, Dulin et al. (1983) relatam que há aumento da contagem celular em amostras de metades mamárias não infectadas, cuja metade adjacente encontra-se infectada.

Segundo Perrin et al. (1997) e Santos (2004), resultados positivos no CMT devem ser interpretados com bastante cautela, principalmente em cabras com baixa produção de leite ou no final da lactação. Para estes autores, reações negativas são mais eficazes para indicar as condições da glândula mamária caprina do que as reações positivas.

Um baixo escore do CMT tem sido sugerido como bom indicador de ausência de infecção intramamária em cabras, entretanto, um alto escore nem sempre indica infecção nesta espécie animal (LEWTER et al., 1984; PERRIN et al., 1997), uma vez que as células epiteliais reagem ao CMT juntamente com os leucócitos, causando uma interpretação diferente da usada para bovinos (HUNTER, 1984; GUIMARÃES et al., 1989; PERRIN et al., 1997).

A bactéria mais isolada foi *Staphylococcus* spp, com 84,44% dos isolados (Tabela 3). Ribeiro et al. (1999), em experimento realizado em São Paulo, observaram o

gênero *Staphylococcus* em 96,1% das amostras de leite de cabras com isolamento bacteriano. Este resultado corrobora com os achados de Castro et al. (1992), Castro et al. (1999), Lima Júnior et al. (1995), Poutrel et al. (1997), Mota et al. (1999; 2002), Silva et al. (2004) e Contreras et al. (2007), os quais apontam o gênero *Staphylococcus* como o principal microrganismo identificado no leite de cabras com mastite. Contreras et al. (2003; 2007) afirmam que vários patógenos podem causar mastite em cabras e ovelhas, mas o *Staphylococcus* spp. é a bactéria mais frequentemente diagnosticada em infecções intramamárias, sendo responsável por um aumento considerável no número de células somáticas.

O bastonete Gram negativo foi isolado da única amostra reagente no teste da caneca telada e os testes bioquímicos utilizados indicavam ser *Salmonella* spp. Segundo Contreras e et al. (2007), apesar do gênero *Staphylococcus* ser o mais prevalente, outros patógenos como *Streptococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Corynebacteria* e *Pseudomonas* também podem provocar infecções intramamárias em pequenos ruminantes, mas sua ocorrência é bem menos freqüente (CONTRERAS et al., 2007).

De forma similar ao presente estudo, White e Hinckley (1999) identificaram *Streptococcus* spp. em 4,1% de amostras de leite de cabras com isolamento.

Embora microrganismos do gênero *Bacillus* sejam considerados, em alguns estudos, como contaminantes (BARCELLOS et al., 1987), Ribeiro et al. (1999) identificaram *Bacillus* spp. em duas (2,6%) amostras de leite de cabras com isolamento bacteriano, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho.

Tabela 3 - Percentual de bactérias isoladas do leite de cabras reagentes ao CMT, na Região do Cariri Paraibano. Janeiro a Outubro de 2007

Bactérias	Nº	%
<i>Staphylococcus</i> spp.	38	84,44
<i>Streptococcus</i> spp.	2	4,44
<i>Bacillus</i> spp.	2	4,44
<i>Micrococcus</i> spp	2	4,44
Bastonete Gram negativo	1	2,22
Total	45	100,00

Nº: número de amostras; %: percentual

CONCLUSÃO

A mastite caprina na região do Cariri Paraibano apresenta o mesmo padrão de outras regiões do Brasil e do mundo, apresentando *Staphylococcus* spp. como principal agente causal.

Devido ao tipo de secreção apócrina da glândula mamária caprina, a lactocultura é o método mais indicado para o diagnóstico da mastite subclínica em cabras leiteiras, apesar de também ser o mais oneroso. O CMT pode ser utilizado como teste de triagem da saúde da glândula mamária caprina, no entanto, deve ser associado ao exame microbiológico do leite para evitar resultados falso-positivos.

REFERÊNCIAS

- ABU-SAMRA, M.T. et al. Gangrenous mastitis in goats. **Cornell Veterinary Medicine**. v.78, n.3, p.281-300. 1988.
- AZEVEDO, E. O. et al. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in goats and sheep in Brazil. **Brazilian Journal microbial**. v.37, p.576-581. 2006.
- AZEVEDO, E. O. Micoplasmoses em ruminantes. In: **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos** / Franklin Riet-Correa et al. Santa Maria: Pallotti. P.383-393, v.1, 2007.
- BANDEIRA, D. A. Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do estado da Paraíba. 2005. 116f. **Tese de Doutorado em Ciência Veterinária – UFRPE**, 2005.
- BARCELLOS, T. F. S. et al. Mastite caprina em rebanhos próximos à Belo Horizonte - Minas Gerais. I – Etiologia e sensibilidade a antibióticos. II – Métodos de diagnóstico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.39, p.307-315. 1987.
- CASTRO, M. V. et al. Ocorrência e caracterização de estafilococos coagulase negativos em leite de cabras no Estado do Rio de Janeiro. **Semina**, v.13, p.15-17, 1992.
- CASTRO, F. J. C. et al. Avaliação da eficácia da gentamicina no tratamento das mastites subclínicas caprinas no Município de Olinda-PE. In: III Encontro de Pesquisadores em mastite, 1999, Recife. **Anais...Recife: 1999**. CD-ROM.
- CASTRO, R.S.; MELO, L.E.H. VAEC e maedivisna: importância na saúde e produtividade de caprinos e ovinos e a necessidade de seu controle no nordeste brasileiro. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.4, p.315-320, 2001.
- CONTRERAS, A. et al. The role of intramammary pathogens in dairy goats. **Livestock Production Science**, v.79, p. 273–283, 2003.
- CONTRERAS, A. et al. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.68, p.145-153, 2007.
- CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos domésticos**. 2ª ed, Rio de Janeiro: Medsi. 1992. 834p.

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

DAMASSA, A.J. Recovery of *Mycoplasma agalactiae* from mastitic goat milk. **American Journal of Veterinary Research**, v.44, p.322-325, 1983.

DAMASSA, A. J. et al. Mycoplasmas of goats and sheep. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.4, p.101-103, 1992.

DIENES, L. Morphology and nature of the pleuropneumonia group of organisms. [Journal of Bacteriology](#), v.50, p.441-458, 1945.

DULIN, A. M. et al. Effect of parity stage of lactation, and intramammary infection on concentration of somatic cell and cytoplasmic particles in goat milk. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.11, p.2426-2433, 1983.

EGWU, G.O. et al. Caprine mycoplasmal mastitis in Nigéria. **Small Ruminant Research**, v.39, p.87-91, 2001.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 2ª ed, São Paulo: Livraria Varela, 2003, 655p.

GUIMARÃES, M. P. et al. Caracterização de alguns componentes celulares e físico-químicos do leite para diagnóstico de mastite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 41, n.2, p.129-142, 1989.

HAMED, A. I. et al. Physical and chemical properties of subclinical mastitic sheep's and goat's milk. **Egyptian Journal Dairy Science**, v.21, p.133-149, 1993.

HAMMAN, J.; EITAM, M. Relevance of machine induced teat tissue reaction in cows for improvement of machine milking in small ruminants. **Sheep Dairy News**. v.10, p.29-31, 1993.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.

HUNTER, A. C. Microflora and somatic cell content of goat milk. **The Veterinary Record**, v.114, n.13, p.318-320, 1984.

LADEIRA, S. R. L. Mastite caprina. In: **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos** / Franklin Riet-Correa et al. Santa Maria: Pallotti. P.373-381, v.1, 2007

LANGONI, H.; FONSECA, P. H. P. Participação da *Listeria monocytogenes* na mastite bovina, importância para a saúde pública. **Higiene alimentar**, v.2, n.50, p. 36-38, 1997.

LARA, M.C.C.S.H. et al. Aspectos clínicos da artrite-encefalite dos caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.6, p,736-740, 2005.

LEWTER, M. M. et al. Mastitis in goats. **The Compendium Continuing Education**, v.6, n.7, p.417-425, 1984.

LIMA JÚNIOR, A. D. et al. Estudo comparativo entre algumas características físico-químicas, celulares e bacteriológicas do leite de cabras reagentes e negativas ao California Mastitis Test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.46, n.3, p. 290-300, 1994.

LIMA JÚNIOR, A, D.; VIANNI, M. C. E. Correlação entre o Californis Mastitis Test, a contagem global de células somáticas e o exame bacteriológico no leite de cabras. **Revista da Universidade Rural**, Série Ciência da vida, v.17, p.7-13, 1995.

MOTA, R. A. et al. Avaliação *in vitro* da sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de mastite subclínica de cabras do estado de Pernambuco – Brasil. In: III Encontro de Pesquisadores em Mastites, 1999, Recife. **Anais...Recife: 1999**. CD-ROM.

MOTA, R. A. et al. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da Região Metropolitana do Recife - PE. IV Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, Recife-PE. **Anais...** p.233-235, 2002.

PERRIN, G. G. et al. Relationships between California Mastitis Test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.26, n.1-2, p.167-170, 1997.

POUTREL, B.; LERONDELLE, C. Cell count of goat milk: Califórnia mastitis test, coulter counter and fotossomatic for predicting half infection. **Journal Dairy Science**, v.66, n.12, p.2575-2579, 1982.

POUTREL, B. et al. Control of intramammary infections in goats: impact on somatic cell counts. **Journal Animal Science**, v.75, p.566-570, 1997.

PYORALA, S. New strategies to prevent mastitis. **Reproduction in Domestic Animals**, Belfast, v.37, n.4, p.211-216, 2002.

QUINN, P. J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Wolf, 1994. 648p.

RIBEIRO, M. G. et al. Mastite caprina: Estudo microbiológico, Físico-químico e do diagnóstico através de provas indiretas. **Biológico**, São Paulo, v.61, n.1, p.27-33, jan/jun., 1999.

RIBEIRO, M.E.R. et al. Relação entre mastites clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas. v.9, n.3, p-287-290, 2003.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: UFMG, 1998.221p.

SANTA ROSA, J. **Enfermidades em caprinos: Diagnóstico, Patogenia, Terapêutica e Controle**. Brasília: Embrapa-SPI / Sobral: Embrapa-CNPC. p.64-66, 1996.

SANTOS, L.P. Caprinos e Ovinos: informações importantes. Natal: SEBRAE/RN, 2004. 43 p.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.130, n.5, 1957.

SILVA, E.R. 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.

SMITH, M. C.; ROGUINSKY, M. Mastitis and other diseases of the goats udder. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.171, p.1241-1248, 1977.

WHITE, E. C.; HINCKLEY, L. S. Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.33, p. 117-121, 1999.

WHITFORD, H.W. et al. **Mycoplasmosis in Animals: Laboratory Diagnosis**. 1st ed. Iowa State University Press, Ames. 1994. 173p.

ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N. Comparison of goat milk standards with cow milk standards for analyses of somatic cell count, fat and protein in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.21, n.3, p.221-225, 1996.