



Mycoplasma agalactiae* em rebanhos leiteiros no estado do Ceará em associação com o vírus da artrite encefalite caprina

Mycoplasma agalactiae in Dairy Goat Flocks Bred in State of Ceará in Association with Caprine Arthritis Encephalitis Virus

Renato Mesquita Peixoto¹, Alice Andrioli², Raymundo Rizaldo Pinheiro², Francisco Selmo Fernandes Alves², Vanderlan Warlington Souza dos Santos³, Maximiana Mesquita de Sousa³, Dalva Alana Aragão de Azevedo¹, Edgar Marques Damasceno⁴ & Maria Fátima da Silva Teixeira¹

ABSTRACT

Background: Contagious agalactia is an infectious disease caused by *Mycoplasma agalactiae* (*M. agalactiae*) that occurs in small ruminants leading to productive and economic losses. Due to the similarity of clinical signs presented in Caprine Arthritis Encephalitis (CAE), which is a viral disease, a differential diagnosis is important. Therefore, this study aimed to investigate the presence of anti-*Mycoplasma agalactiae* antibodies in dairy goat flocks in Ceará State and possible correlation with CAE.

Materials, Methods & Results: The research was performed in four mesoregions in Ceará State (Metropolitan Region of Fortaleza-MRF; Northeast Ceará - NeC; North Ceará - NC; Sertões in Ceará - SC), from which 16 productions located in 10 cities with the highest representativeness for goat milk production within the State or mesoregion were sampled. A total of 417 females and 69 males (486 animals) of breeds with dairy production aptitude, pure or crossbreed, maintained in semi-intensive or intensive systems, were tested. Blood serum was obtained by venipuncture of the jugular vein with vacuum pressure syringe followed by centrifugation at 1,500 g for 10min. Antibodies against the caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) were detected with micro technique of agarose gel immunodiffusion (AGID) and Western Blot (WB). The anti-*Mycoplasma agalactiae* antibodies were detected with commercial kit of enzymatic immunoassay (IDEXX LaboratoriesTM). Seroprevalence of *M. agalactiae* in dairy goat flocks in Ceará State was 0.62% (3/486). From the total of 16 visited productions, 18.75% (3/16) had seropositive animals for *M. agalactiae* located in MRF, NC and SC mesoregions. CAE was diagnosed in 56.25% (9/16) of productions with AGID and in 81.25% (13/16) with WB. In addition, 5.2% (25/486) of animals were seropositive for CAE with AGID and 16.6% (80/486) with WB. Animals that reacted positive for *M. agalactiae* were all females of pure breed with milk production aptitude in distinct mesoregions submitted to intensive rearing system. None of these animals was positive in neither test (AGID or WB) for CAE. Therefore, no correlation of results obtained in diagnosis of *M. agalactiae* by ELISA and CAEV by AGID or WB ($P < 0.05$) was identified. However, two out of three productions that were positive for *M. agalactiae* presented positive results for CAEV with frequencies of 10% and 20%.

Discussion: Seroprevalence of *M. agalactiae* in Ceará State was low in comparison with other Brazilian states and even other countries. However, the presence of the pathogen in more than one mesoregion indicates that the disease occurs in different locations within the State. Therefore, flocks in Ceará are susceptible to the infection, which may be favored by uncontrolled commerce that occurs with deficient surveillance, associated with the importation of animals to improve flock genetic quality. The presence of the pathogen in dairy goats may contribute to significant losses in the local production. On the other hand, CAE was diagnosed in nearly all productions proving the dissemination of this lentivirus infection among dairy goat flocks in Ceará State. Although an association between these diseases was not identified, the presence of a retrovirus in the organism may favor co-infection with another micro-organism, promoting the deficiency in the immune system of the host. In conclusion, *M. agalactiae* is present in different mesoregions of the Ceará State and control measures should be adopted in short term to prevent pathogen dissemination and, consequently reduce economic and productive losses in the local dairy goat production. No correlation was identified between the prevalence of infection by CAEV and *M. agalactiae* in this study.

Keywords: correlation, diagnosis, caprine lentivirus, mycoplasmosis.

Descritores: correlação, diagnóstico, lentivírus caprino, micoplasmose.

DOI: 10.22456/1679-9216.81885

Received: 18 October 2017

Accepted: 10 February 2018

Published: 27 February 2018

*Article based on a Dissertation submitted by the senior author in partial fulfillment of requirements for the Doctor's Degree. ¹Laboratório de Virologia (LABOVIR), Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, CE, Brazil. ²EMBRAPA Caprinos e Ovinos (CNPACO), Sobral, CE. ³Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró, RN, Brazil. ⁴Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), Sobral. CORRESPONDENCE: R.M. Peixoto [renatomiraima@gmail.com - Fax: +55 (85) 3101-9849]. LABOVIR, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará (UECE). Av. Dr. Silas Munguba n. 1700. Campus do Itaperi. CEP 60740-000 Fortaleza, CE, Brazil.

INTRODUÇÃO

A infecção por *Mycoplasma agalactiae* (*M. agalactiae*) afeta pequenos ruminantes [23], causando a Agalaxia Contagiosa (AC), doença raramente diagnosticada, apesar das perdas econômicas acarretadas à pecuária [26]. No Brasil essa micoplasmose já foi relatada no Nordeste [6], primeiramente em 2001 na Paraíba [5], seguido por Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe [1,5,26]. No Ceará, relataram *Mycoplasma* sp., pelo isolamento em co-cultivo do líquido sinovial em células de dois caprinos [9].

Os sinais clínicos após infecção por *M. agalactiae* são: mastite com redução na produção de leite, agalaxia, artrite, ceratoconjuntivite e pneumonia [15]. Essa doença pode ser confundida com a artrite encefalite caprina (CAE) cujo agente etiológico desencadeia um quadro sintomatológico similar a AC, passando a ser fundamental um diagnóstico diferencial [19].

Portanto, o diagnóstico não pode se basear apenas nos sinais clínicos, sendo necessário a realização de testes de diagnóstico. O ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) indireto, em geral, é o escolhido para o diagnóstico de micoplasmose, por sua eficácia na detecção de anticorpos [6,15]. Já para CAE, a Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) e ELISA indireto são os exames preconizados pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) [16,20]. No entanto, por sua sensibilidade e especificidade ser superior a outros testes sorológicos, o Western Blot (WB) tem sido uma alternativa eficaz na detecção de anticorpos contra o lentivírus caprino [18,24,28]. Assim, objetivou-se com o presente estudo investigar a existência de anticorpos anti-*Mycoplasma agalactiae* em rebanhos leiteiros no estado do Ceará e a sua possível correlação com a CAE.

MATERIAIS E MÉTODOS

Localização

A pesquisa foi realizada em quatro mesorregiões do estado do Ceará (Região Metropolitana de Fortaleza - RMF; Noroeste Cearense - NoC; Norte Cearense - NC; Sertões Cearense - SC), situadas no nordeste do Brasil. Na RMF foram estudadas sete propriedades em quatro municípios (Aquiraz, Caucaia, Fortaleza e Horizonte), no NoC três propriedades em dois municípios (Santa Quitéria e Sobral), no NC três propriedades em dois municípios (Beberibe e São Gonçalo do Amarante) e nos SC foram três propriedades

em dois municípios (Banabuiú e Quixadá), perfazendo um total de 16 propriedades em 10 municípios com maior representatividade na produção de leite caprino para o estado ou para mesorregião. Além disso, as mesorregiões escolhidas representam 71,73% do rebanho caprino do estado do Ceará [14].

Animais

Foram utilizados 417 fêmeas e 69 reprodutores caprinos, totalizando 486 animais, oriundos de rebanhos destinados à produção de leite, sendo todos de raça com aptidão leiteira, puros ou mestiços, e criados em sistema intensivo ou semi-intensivo.

Procedimento Experimental

Os testes de diagnóstico foram aplicados utilizando soro sanguíneo, obtido a partir de coleta de sangue de todos os animais experimentais por meio da punção da veia jugular, por sistema à vácuo, com tubos¹ de 5 mL sem anticoagulante, seguido de centrifugação em centrífuga (Excelsa® II 206 BL)² não refrigerada a 1500 g por 10 min.

Na detecção de anticorpos contra o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) foi utilizado a microtécnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) conforme metodologia de Gouveia [13], e a técnica de Western Blot (WB) descrita por Rodrigues *et al.* [24]. O antígeno utilizado para a IDGA foi produzido no Laboratório de Virologia da Embrapa Caprinos e Ovinos, a partir de estirpe do CAEV-Cork (CAEV-Co), utilizando o protocolo de Pinheiro *et al.* [22]. No preparo do antígeno utilizado no WB utilizou-se o método de ultracentrifugação em gradiente de sacarose³ [11]. A concentração da proteína total foi determinada pelo método de Bradford [7] e o antígeno mantido a -80°C até a realização dos ensaios laboratoriais.

Para a detecção de anticorpos anti-*Mycoplasma agalactiae* da lipoproteína de membrana p48, foi utilizado o kit comercial⁴ de imunoenensaio enzimático, segundo recomendações do fabricante, com diluição dos soros de 1:20 com valor de corte igual ou superior a 60% de percentual de reconhecimento de anticorpos, sendo utilizado espectrofotômetro (Multiskan FC)⁵ para leitura da absorbância das placas.

Análise Estatística

Um banco de dados foi elaborado, mediante tabulação e codificação, com os resultados obtidos submetidos ao teste de Qui-quadrado (χ^2) e exato de

Fisher, nos casos onde os critérios do qui-quadrado não foram atendidos, considerando-se sempre o nível de significância de 5% ($P < 0,05$) analisado pelo programa IBM® SPSS® Statistics versão 21⁶. Em seguida, aplicou-se uma análise de regressão logística, considerando o modelo:

$$\hat{\pi}_j = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 x_{1j} + \dots + \beta_m x_{mj})}}$$

Em que:

$\hat{\pi}$ = Probabilidade de ter a doença;

j = Variação de cada animal;

e = Exponencial da função logística;

β_0 a β_m = Parâmetros do modelo;

X_1 a X_m = Variáveis do estudo consideradas no modelo.

RESULTADOS

Na análise dos dados (Tabela 1) pode-se observar que a soroprevalência de *M. agalactiae* em rebanhos de caprinos leiteiros no estado do Ceará foi de 0,62% (3/486). Dentre as 16 propriedades que compuseram esse estudo, 18,75% (3/16) tiveram animais soropositivos para *M. agalactiae*, sendo estas oriundas das mesorregiões metropolitana de Fortaleza, norte cearense e sertões cearenses (Figura 1).

A CAE foi diagnosticada em 56,25% (9/16) das propriedades pela IDGA, e em 81,25% (13/16) pelo WB (Figura 1). Adicionalmente observa-se que a CAE, nesse estudo, apresentou 5,2% (25/486) de animais soropositivos pela IDGA, enquanto pelo *Western Blot*, 16,6% (80/486) das amostras apresentaram anticorpos contra o lentivírus caprino (Tabela 1; Figura 2). Contudo, no presente trabalho todas as amostras positivas no IDGA também foram positivas pelo WB (Figura 3).

Os animais sororeagentes para *M. agalactiae* no presente estudo, eram de matrizes puras de raça com aptidão leiteira, pertencentes a propriedades e mesorregiões distintas, e submetidas a sistema de criação intensivo. Contudo, essas matrizes não foram soropositivas em nenhum dos testes (IDGA e WB) para Artrite Encefalite Caprina. Dessa forma, não se evidenciou correlação entre os resultados obtidos no teste de ELISA para *M. agalactiae* e o CAEV por IDGA ou por WB ($P < 0,05$), pois nenhum animal apresentou resultado positivo na detecção de anticorpos para ambos os patógenos (Figura 3). Entretanto, em três propriedades com animais sororeagentes para *M. agalactiae*, em duas foi identificado animais com Artrite Encefalite Caprina com percentual de detecção variando de 10 a 20%.

Tabela 1. Soroprevalência de anticorpos contra o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) e *Mycoplasma agalactiae* em caprinos leiteiros no estado do Ceará.

| Parâmetro | Vírus da Artrite Encefalite Caprina | | | | <i>Mycoplasma agalactiae</i> | |
|-----------|-------------------------------------|-------|--------------|-------|------------------------------|-------|
| | IDGA | | Western Blot | | ELISA | |
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| Positivo | 25 | 5,20 | 80 | 16,60 | 3 | 0,62 |
| Negativo | 461 | 94,80 | 406 | 83,40 | 483 | 99,38 |

IDGA = Imunodifusão em Gel de Ágar; ELISA: Imunoensaio Enzimático; Nº = Número de amostras; % = Valor percentual.

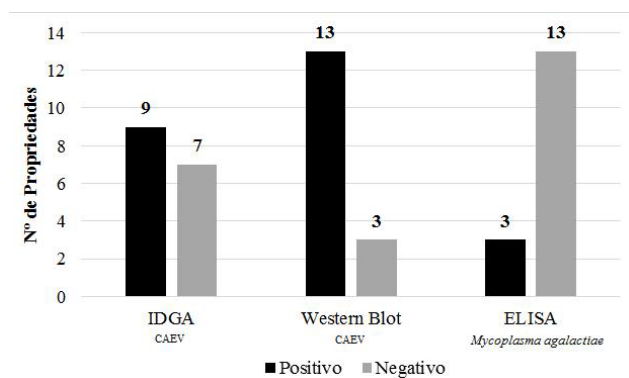


Figura 1. Soroprevalência do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) por Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) e Western Blot, e do *Mycoplasma agalactiae* por Imunoensaio Enzimático (ELISA) indireto, nas propriedades com rebanho de caprinos leiteiros.

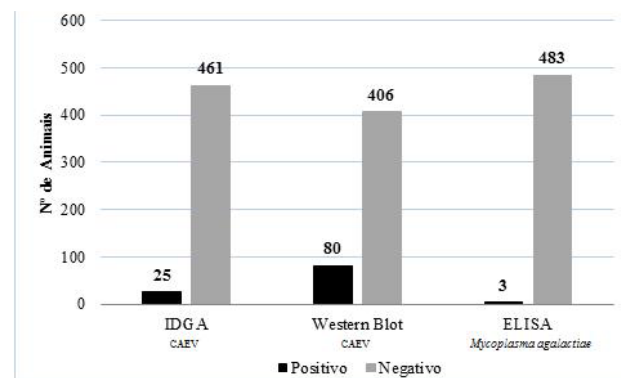


Figura 2. Soroprevalência do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) por Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) e Western Blot, e do *Mycoplasma agalactiae* por Imunoensaio Enzimático (ELISA) indireto em rebanhos de caprinos leiteiros.

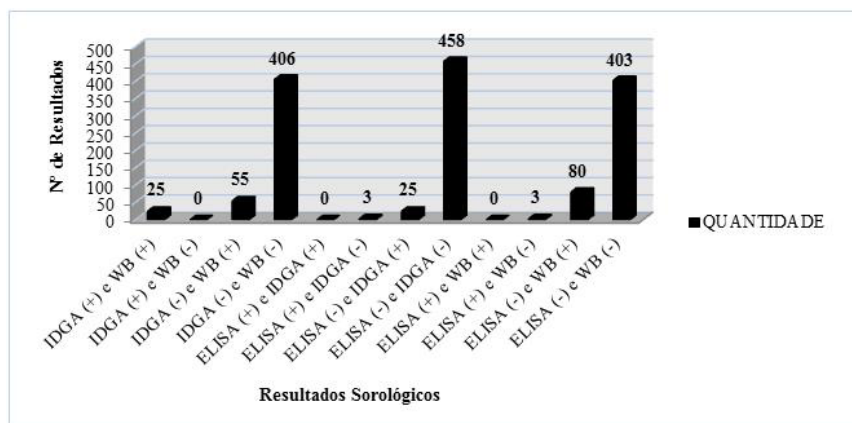


Figura 3. Associação dos resultados do diagnóstico sorológico entre Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) com Western Blot para o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV), e de ambos com o de Imunoensaio Enzimático (ELISA) indireto para *Mycoplasma agalactiae* em rebanhos de caprinos leiteiros.

DISCUSSÃO

A soroprevalência encontrada para *M. agalactiae* no estado do Ceará pode ser considerada baixa em comparação aos percentuais relatados em outros estados brasileiros, como na Paraíba (83,28%) [8], Sergipe (10,3%) [26], São Paulo (27,7%) [6], e Rio de Janeiro (85%) [25], como também, em países, como Mali (8,3%) [12], e Espanha (66,7%) [4]. Vale ainda salientar que com esse estudo o estado do Ceará torna-se o quinto do Nordeste a relatar a presença desse agente.

A infecção de *M. agalactiae* nos estados brasileiros pode ser atribuída ao livre comércio com fiscalização deficiente em feiras e exposições agropecuárias, associada à importação de animais de outros estados ou países como forma de melhorar geneticamente a qualidade dos rebanhos [5]. A presença de animais cronicamente infectados e assintomáticos resulta não só na manutenção da infecção dentro do rebanho como também no risco de disseminação para outras propriedades [23]. Como estes rebanhos são de animais direcionados a produção de leite, a comprovação da presença do agente favorece a possibilidade de ocorrências de perdas consideráveis na produção [27].

Adicionalmente a presença de anticorpos contra o *M. agalactiae* em propriedades situadas em diferentes mesorregiões, indica que apesar da baixa prevalência, a doença encontra-se em pontos distintos do estado do Ceará, sendo cada propriedade fonte de contágio do patógeno. Diante disso, indica um estado de susceptibilidade à infecção por parte dos rebanhos cearenses, sendo necessário medidas que impeçam a sua disseminação, e conseqüentemente maiores danos e perdas econômicas aos produtores.

Já a CAE por ter sido diagnosticada em quase todas as propriedades, comprova a disseminação dessa lentivirose nos rebanhos cearenses com aptidão leiteira, vindo o valor de soropositividade detectado pela IDGA nesse estudo ser superior aos 4,6% constatado em rebanhos de caprinos leiteiros no Ceará [21], e aos 2,8% relatado no estado do Maranhão ao fazer uso desse mesmo teste sorológico [30]. Além disso, o teste de *Western Blot* reafirmou ainda mais essa situação, uma vez que foram detectados um maior número de amostras sororeagentes, comprovando assim a maior sensibilidade do WB em relação ao IDGA (Figura 2) [3,24]. Entretanto, o valor evidenciado nesse trabalho de amostras positivas para CAE pelo WB, foi inferior aos 30,6% relatado em outra pesquisa com rebanhos de caprinos cearenses [24], porém superior aos 6,44% registrado no sertão de Pernambuco [2].

Mas fica evidente que a IDGA detecta níveis elevados de anticorpos circulantes no sangue e que por isso propicia resultados falso-negativos, pois níveis mínimos de anticorpos podem não ser detectados. Em contrapartida, o WB, por ser um teste com maior sensibilidade, é capaz de detectar baixos níveis de anticorpos, e riscos mínimos de reações inespecíficas [10,24].

Nessa perspectiva, constata-se que tanto a Agalaxia Contagiosa quanto a CAE encontram-se presente nos rebanhos cearenses, podendo a ocorrência de rebanhos caprinos com casos de artrite, ceratoconjuntivite e pneumonia, sugerir a presença de uma ou das duas enfermidades [12].

Assim, embora não tenha sido comprovado à existência de associação entre essas enfermidades,

à presença de um retrovírus no organismo pode facilitar a co-infecção por outro microorganismo promovendo a debilitação do sistema imunológico do indivíduo portador. Um exemplo clássico pode ser observado com a elevação nos casos de co-infecção entre pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus esse pertencente à mesma família do CAEV, e pelo bacilo da tuberculose, onde a infecção por HIV aumenta em 20 vezes o risco de desenvolver tuberculose ativa [17]. Além disso, há relatos que 32,1% de indivíduos portadores do HIV estavam coinfectados por *Mycoplasma hominis* uma espécie de micoplasma potencialmente patogênico encontrado no trato urogenital [29]. Portanto, a infecção por um retrovírus pode predispor a entrada de outros microorganismos.

CONCLUSÃO

Não houve correlação positiva na incidência de infecção pelo CAEV e pelo *Mycoplasma agalactiae* no presente estudo. Entretanto, o *Mycoplasma agalactiae* está presente em distintas mesorregiões, e

medidas sanitárias devem ser adotadas, em um curto prazo, a fim de impedir a disseminação do patógeno, e consequentemente, prejuízos produtivos e econômicos, a caprinocultura leiteira cearense.

MANUFACTURERS

¹BD Vacutainer®. São Paulo, SP, Brazil.

²FANEM® Ltda. Guarulhos, SP, Brazil.

³Sigma-Aldrich. St Louis, MO, USA.

⁴IDEXX Laboratories™. Westbrook, ME, USA.

⁵Thermo Electron. Waltham, MA, USA.

⁶OSB Software. São Paulo, SP, Brazil.

Funding. The work was financially supported by Funcap [Project number BP2-0107-00240.01.00/15], CNPq/MAPA/SDA [Project number 578438/2008-9], CAPES [Project CAPES/EMBRAPA 15/2014 number 145], and EMBRAPA [Project number 02.13.10.003.00.05].

Ethical approval. This work is part of the PhD thesis of the first author. The research project was approved by the Ethics Committee for the Use of Animals (CEUA) under number 012.12.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Alves B.H.L.S., Silva J.G., Mota A.R., Campos A.C., Pinheiro Júnior J.W., Santos S.B. & Mota R.A. 2013. *Mycoplasma agalactiae* in semen and milk of goat from Pernambuco state, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(11): 1309-1312.
- 2 Alves J.R.A., Limeira C.H., Lima G.M.S., Pinheiro R.R., Alves F.S.F., Santos V.W.S., Azevedo S.S. & Alves C.J. 2017. Epidemiological characterization and risk factors associated with lentiviral infection of small ruminants at animal fairs in the semiarid Sertão region of Pernambuco, Brazilian semiarid. *Semina: Ciências Agrárias*. 38(4): 1875-1886.
- 3 Arruda E.T., Oliveira M.M.M., Nascimento S.A., Campos A.C. & Castro R.S. 2011. Avaliação de uma microimunodifusão em gel de ágar para diagnóstico de lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR) em caprinos. *Ciência Animal Brasileira*. 12(3): 560-565.
- 4 Amores J., Sánchez., Gómez-Martín A., Corrales J.C., Contreras A. & de la Fe C. 2012. Surveillance of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in dairy goat herds. *Small Ruminant Research*. 102(1): 89-93.
- 5 Azevedo E.O., Alcântara M.D.B., Nascimento E.R., Tabosa I.M., Barreto M.L., Almeida J.F., Araújo M.D., Rodrigues A.R.O., Riet-Correa F. & Castro R.S. 2006. Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37(4): 576-581.
- 6 Azevedo E.O., Câmara D.R., Silva S.V. & Guerra M.M.P. 2015. Agalaxia contagiosa: Um “novo” problema para caprinos e ovinos no Brasil. *Ciência Veterinária nos Trópicos*. 18(2): 34-38.
- 7 Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- 8 Campos A.C., Teles J.A.A., Azevedo E.O., Nascimento E.R., Oliveira M.M.M., Nascimento S.A. & Castro R.S. 2009. ELISA protein G for the diagnosis of contagious agalactia in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 84(1-3): 70-75.

- 9 Cavalcante A.C.R., Alves F.S.F. & Nascimento E.R. 1999. Ácaros do conduto auditivo de caprinos e infecção por *Mycoplasma*. *Embrapa Caprinos e Ovinos - Outras publicações técnicas (INFOTECA-E)*. pp.1-2.
- 10 Cruz R.B., Putini V.B., Santana G.S., Jorge J.S., Coelho I., Silva D.L., Zacharias F., Tigre D. & Cerqueira R.B. 2009. Estudo comparativo da sensibilidade e da especificidade de ELISA indireto com o teste de imunodifusão em gel de agarose no diagnóstico sorológico da artrite encefalite caprina (CAE). *Revista Acadêmica: Ciência Animal*. 7(3): 355-364.
- 11 Dantas T.V.M., Araújo S.A.C., Pinheiro R.R., Aragão M.A.C., Silva J.B.A., Ricarte A.R.F., Ribeiro A.L. & Teixeira M.F.S. 2008. Desenvolvimento e padronização de um Elisa indireto para diagnóstico de *Maedi Visna* em ovinos. *Ciência Animal Brasileira*. 9: 181-187.
- 12 Diallo M., Cissé O., Niang M., Doucouré M., Koné M., Schalch L., Nicolet J. & Roth J. 2003. Enquête sérologique de l'agalactia contagieuse à *Mycoplasma agalactiae* chez les petits ruminants au Mali. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*. 56(1-2): 17-20.
- 13 Gouveia A.M. 1994. Padronização de microtécnica de imunodifusão em gel de agarose para diagnóstico de lentivírus da pneumonia progressiva ovina (OPP), maedi-visna (MVV) e artrite encefalite caprina (CAEV). Sobral (Mimeografado), 4p.
- 14 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Perfil pecuário*. Disponível em: <http://downloads.ibge.gov.br/downloads_estatisticas.htm>. [Accessed online in August 2017].
- 15 Kumar A., Rahal A., Chakraborty S., Verma A.K. & Dhama K. 2014. *Mycoplasma agalactiae*, an etiological agent of contagious agalactia in small ruminants: A Review. *Veterinary Medicine International*. Article ID 286752, 13p.
- 16 Lima C.C.V., Costa J.N., Souza T.S., Martínez P.M., Costa Neto A.O., Azevedo D.A.A. & Pinheiro R.R. 2013. Immunodiagnostic for arthritides encephalitis caprine in flocks of semi-arid region in Bahia state, Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 35: 358-364.
- 17 Magno E.S., Saraceni V., Souza A.B., Magno R.S., Saraiva M.G.G. & Bühner-Sékula S. 2017. Fatores associados à coinfeção tuberculose e HIV: o que apontam os dados de notificação do Estado do Amazonas, Brasil, 2001-2012. *Cadernos de. Saúde Pública*. 33(5): dx.doi.org/10.1590/0102-311x00019315.
- 18 Miguel M.P., Menezes L.B. & Araújo E.G. 2012. Western Blotting: A técnica e aplicações na pesquisa e rotina diagnóstica em medicina veterinária. *Enciclopédia Biosfera*. 8(15): 1704.
- 19 Minguijón E., Reina R., Pérez M., Polledo L., Villoria M., Ramírez H., Leginagoikoa I., Badiola J.J., García-Martín J.F., De Andrés D., Luján L., Amorena B. & Juste R.A. 2015. Small ruminant lentivirus infections and diseases. *Veterinary Microbiology*. 181(1): 75-89.
- 20 Office International des Epizooties. 2004. *Manual of standards diagnostic tests and vaccines*. World Organization for Animal Health. 5th edn. Paris: OIE, 1178p.
- 21 Pinheiro R.R., Gouveia A.M.G. & Alves F.S.F. 2001. Prevalência da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina no estado do Ceará, Brasil. *Ciência Rural*. 31(3): 449-454.
- 22 Pinheiro R.R., Andrioli A., Gouveia A.M.G., Aragão M.A.C. & Martínez P.M. 2010. Avaliação de antígenos para o diagnóstico de lentivírus em rebanho caprino sob programa de controle. *Arquivo do Instituto Biológico*. 77: 133-137.
- 23 Prats-Van der Ham M., Tatay-Dualde J., de la Fe C., Paterna A., Sánchez A., Corrales J.C., Contreras A. & Gómez-Martín A. 2017. Detecting asymptomatic rams infected with *Mycoplasma agalactiae* in ovine artificial insemination centers. *Theriogenology*. 89: 324-328.
- 24 Rodrigues A.S., Brito R.L.L., Pinheiro R.R., Dias R.P., Alves S.M., Souza T.S., Souza K.C., Azevedo D.A.A., Andrioli A., Magalhães D.C.T. & Teixeira M.F.S. 2014. Padronização do Elisa indireto e Western Blot para diagnóstico da artrite-encefalite caprina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 66(2): 417-424.
- 25 Santos L.M.M., Pereira C.M., Mansur F.J., Lopes L.A., Campos A.C., Azevedo E.O., Castro R.S., Barreto M.L., Almeida J.F. & Nascimento E.R. 2014. *Mycoplasma agalactiae* Outbreak in Goat Herd of Rio de Janeiro State, Brazil. In: *Abstracts of the XX Congress of the International Organization for Mycoplasmaology* (Blumenau, Brazil). P1. p.22.
- 26 Santos M.O., Campos A.C., Santos J.P., Santos P.O.M., Caldas E.L.C., Santos A.D.F., Nascimento E.R., Castro R.S. & Azevedo E.O. 2015. Agalaxia contagiosa em ovinos e caprinos do Estado do Sergipe: dados preliminares. *Scientia Plena*. 11(4): 046124-1, pp.1-5.
- 27 Silva N.S., Azevedo E.O., Campos A.C., Cordeiro A.A., Mamede A.G., Silva R.B.S., Castro R.S., Nascimento E.R. & Marinho M.L. 2014. Infecção congênita em cabritos por *Mycoplasma agalactiae*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 66(2): 631-634.

- 28 Sousa A.L.M. 2013.** Avaliação da sensibilidade de testes de Imunodiagnóstico para detecção de anticorpos contra o vírus da Artrite Encefalite Caprina. 21f. Sobral, CE. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) - Universidade Estadual Vale do Acaraú.
- 29 Souza G.C., Xavier-Souza E., Timbó M.S., Cunha V. & Travassos A.G. 2017.** P3.83 Antimicrobial resistance of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* researched at a reference centre in Salvador, Bahia. *Journal Sexually Transmitted Infections*. 93(2): 123-124.
- 30 Teixeira W.C., Santos H.P., Veschi J.L.A., Nascimento S.A., Silva J.C.R, Marvulo M.F.V., Rizzo H. & Castro R.S. 2016.** Prevalência da infecção pelo Vírus da Artrite Encefalite Caprina em rebanhos caprinos do estado do Maranhão, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 38(1): 1-6.