

**EDUARDO LEVI DE SOUSA GUARANÁ**

**DINÂMICA DA INFECÇÃO INTRAMAMÁRIA EM OVELHAS DA RAÇA SANTA  
INÊS ACOMPANHADAS DURANTE A LACTAÇÃO E SEU IMPACTO SOBRE A  
COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE**

**RECIFE**

**2011**

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

**EDUARDO LEVI DE SOUSA GUARANÁ**

**DINÂMICA DA INFECÇÃO INTRAMAMÁRIA EM OVELHAS DA RAÇA SANTA  
INÊS ACOMPANHADAS DURANTE A LACTAÇÃO E SEU IMPACTO SOBRE A  
COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE**

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

Orientadora:

Dr<sup>a</sup> Carla Lopes de Mendonça

**RECIFE**

**2011**

Ficha catalográfica

G914d Guaraná, Eduardo Levi de Sousa  
Dinâmica da infecção intramamária em ovelhas da raça  
Santa Inês acompanhadas durante a lactação e seu impacto  
sobre a composição físico-química do leite / Eduardo Levi de  
Sousa Guaraná. -- 2011.  
76 f.: il.

Orientadora: Carla Lopes de Mendonça.  
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) –  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento  
de Medicina Veterinária, Recife, 2011.  
Inclui referências e anexo.

1. Infecção intramamária 2. Fases da lactação  
3. Composição láctea 4. Contagem de células somáticas  
5. Etiologia 6. Perfil de sensibilidade I. Mendonça, Carla  
Lopes de, orientadora II. Título

CDD 636.30896

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

**DINÂMICA DA INFECÇÃO INTRAMAMÁRIA EM OVELHAS DA RAÇA SANTA  
INÊS ACOMPANHADAS DURANTE A LACTAÇÃO E SEU IMPACTO SOBRE A  
COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE**

Dissertação de Mestrado elaborada por  
**EDUARDO LEVI DE SOUSA GUARANÁ**

Aprovada em 18/02/2011

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Dr<sup>a</sup> CARLA LOPES DE MENDONÇA**  
Orientadora – Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns – UFRPE

---

**Dr<sup>o</sup> JOSÉ AUGUSTO BASTOS AFONSO**  
Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns – UFRPE

---

**Dr<sup>o</sup> NIVALDO DE AZEVÊDO COSTA**  
Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns – UFRPE

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> MARIA JOSÉ DE SENA**  
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

**DEDICO** esta minha conquista com a mais profunda admiração, aos que são a razão do meu viver: *Deus*, pela força em todos os momentos da minha existência. E minha amada mãe *Vanusia*, pelo exemplo de dedicação e esforço na minha criação.

Que compartilharam dos meus ideais e os alimentou, incentivando-me a prosseguir na jornada, fossem quais fossem os obstáculos; pois sempre estiveram do meu lado, lutando comigo.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a *Deus*, o Pai Celestial, inteligência suprema e causa primária de todas as coisas. Agradeço por me possibilitar alcançar mais uma etapa nesta encarnação, a Ti que és minha força nos momentos alegres e tristes, me dá fé, paciência e discernimento do melhor caminho a seguir e me abençoa em todos os momentos da minha vida.

À *Vanusia*, minha mãe querida, a mulher da minha vida, exemplo de dedicação e amor. Você que sempre me incentivou, até privando-se do meu convívio para que hoje eu alcançasse mais um degrau nos estudos. Momentos de saudades foram inúmeros, mas a fé em Deus nos possibilitou a confiança de que tudo na vida passa. Obrigado por tudo! Te amo.

À *Dr<sup>a</sup> Carla Lopes de Mendonça*, pela orientação no mestrado. Que com o seu projeto, acreditou em mim e possibilitou a realização deste sonho; desculpe por algum erro e seus ensinamentos serão para a vida toda.

À minha tia-mãe *Carlinda*, que acompanha todas as fases da minha vida; sua presença e ajuda sempre constante são fundamentais para o meu crescimento. Obrigado por tudo!

Aos tios (*Adalberto, Edilene, Eurídice e Madalena*) e primas (*Edleuza e Sony*), cuja ajuda não apenas material, mas principalmente, as palavras de incentivo e orações, possibilitaram o meu caminhar acadêmico. Às avós de coração, *Arlinda* e *Gilda*, pelos pensamentos positivos.

A todos os meus familiares, que torceram por mim e me acolheram, em especial *Yara* e *Gilsyara* que com alegria e carinho fizeram de alguns finais-de-semana mais agradáveis.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Pernambuco (*FACEPE*), pela concessão da bolsa de mestrado (Edital – 13/2008).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (*CNPq*), pelo suporte financeiro, indispensável para o trabalho de pesquisa (Edital Universal – 15/2007).

Ao Prof<sup>o</sup> *Severino Benone* e equipe do Laboratório do Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (*PROGENE/UFRPE*), pelas análises nas amostras de leite.

Aos proprietários, senhores *Jurandir Miranda, Iranildo e Ronaldo*, que possibilitaram a realização deste trabalho em seus animais e instalações. Aos seus funcionários que foram de suma importância no manejo das ovelhas utilizadas no experimento.

Aos que fazem a Clínica de Bovinos. Aos residentes, companheiros de trabalho e pessoas fundamentais na aprendizagem na arte da convivência. A *D. Marluce*, que com sua atenção cuidou de mim como a um filho. Aos estagiários, pela convivência agradável e ajuda neste mestrado. Aos funcionários, *Selma, Jeane, Maria Luiza, Ciane, Rose (i.m.), Emanuel,*

*Everaldo*, tratadores (*Jamerson*, *Sebastião* e *Reginaldo*), *Gildo* e *Tony*, os momentos vividos nunca serão esquecidos e a ajuda de todos vocês, cada um na sua ocupação e possibilidade, foram muito importante para mim. Aos técnicos, Dr<sup>o</sup> *José Augusto* pela orientação na residência e pelos ensinamentos profissionais; Dr<sup>o</sup> *Nivaldo Costa*, pelos ensinamentos e conselhos sempre oportunos; e Dr<sup>a</sup> *Maria Isabel*, pelo carinho e atenção sempre prestados.

Ao amigo-irmão *Rafael Otaviano*, pela ajuda sempre presente, pelos conselhos nas horas difíceis e por ceder sua casa como moradia nas minhas idas e vindas. Meu obrigado!

Aos amigos de sempre, *Rogério* e *Anne*, fundamentais na execução deste projeto, pelos momentos vividos no laboratório e pela descontração nos passeios. *Alexandre* e *Janaína*, que desde a residência dividimos momentos únicos, obrigado pela ajuda nunca negada e conselhos dados. Obrigado por tudo, a ajuda de todos vocês nunca será esquecida.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (*UFRPE*) e seus professores, por participar em mais uma etapa da minha formação profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, seus coordenadores e secretário *Tom Menezes*, que sempre estiveram dispostos à resolução de nossas dificuldades.

À amiga *Kaysa Mabelle*, obrigado pela ajuda e acolhimento, que possamos continuar vivenciando muitos momentos bons.

Aos amigos, *Kalina*, *Pedro* e *Simonal* pelos momentos vividos durante a residência e que são sempre lembrados com carinho; *Artur* e *Elizabeth*, colegas e companheiros das disciplinas do mestrado.

À *Natália Silva*, *Fábio Cordeiro* e *Eldinê*, pela companhia, pelas conversas descontraídas no laboratório e na ajuda nas atividades deste trabalho.

Às eternas professoras, *Maria José de Sena* e *Márcia Brayner*, que apesar dos raros momentos juntos, sei que torcem por mim.

Às *ovelhas* e *borregos* utilizados no trabalho, seres fundamentais para a realização e aprendizado deste estudo.

Aos que fisicamente não posso dar um abraço de agradecimento. Ao meu pai *João Marinho*, mesmo com todas as dificuldades do convívio sempre me abençoou e torceu pelo meu sucesso. Aos avós, *Adalberto* e *Ernestina*, que cuja proteção é sempre sentida. Aos tios, *Edvaldo*, *Ernando*, recentemente tia *Mariazinha* e outros, que na vida espiritual estarão sempre torcendo por mim. Ao meu *Anjo-guardião* e *Amigos espirituais*, que me guiam pela senda do bem, auxiliam com seus conselhos, consolam-me nas minhas aflições e levanta meu ânimo nas provas da vida, me fortalecendo para aqui chegar, e fazer de mim um vitorioso.

## RESUMO

**Dinâmica da infecção intramamária em ovelhas da raça Santa Inês acompanhadas durante a lactação e seu impacto sobre a composição físico-química do leite.** - Objetivou-se neste estudo, avaliar a dinâmica da infecção intramamária nas diferentes fases da lactação (início, meio e final) e seu impacto sobre a composição físico-química do leite em ovelhas da raça Santa Inês. Foram acompanhadas 34 ovelhas primíparas e múltíparas da raça Santa Inês criadas em sistema semi-intensivo e submetidas ao mesmo manejo higiênico-sanitário e nutricional durante todo o período de lactação, sendo avaliadas aproximadamente 10 dias antes do parto (fase de formação do colostro), 15 dias pós-parto (dpp), 30 dpp, 60 dpp e 90 dpp (desmame), momentos em que foi realizado exame clínico da glândula mamária. O cultivo bacteriológico e o perfil de sensibilidade dos isolados foram realizados em todos os momentos; e nos momentos pós-parto realizou-se também a contagem direta de células somáticas (CCS) e avaliação físico-química do leite (teor de gordura, proteína, lactose, densidade, acidez Dornic, condutividade elétrica, pH e teor de cloretos). Baseado no crescimento bacteriano, as amostras foram caracterizadas como provenientes de glândulas sadias (G1) ou infectadas (G2) nos respectivos momentos. Foi empregada a análise de variância e calculada a estatística F e seu respectivo nível de significância (p), e no estudo descritivo das variáveis estudadas empregou-se a distribuição de frequências (%). Todas as ovelhas foram negativas na sorologia para lentivírus. Foi observada elevação ( $P < 0,05$ ) na contagem de células somáticas caracterizando o processo inflamatório, com consequente elevação, apesar de pequena intensidade no teor de gordura, proteína e cloretos e pH, e redução no teor de lactose, sendo estas alterações mais marcantes na fase final de lactação. A fase que precede o parto apresentou alto percentual de isolamento bacteriano de glândulas aparentemente sadias, bem como, na fase inicial da lactação. O *Staphylococcus* coagulase negativo foi o agente mais frequentemente isolado dos casos subclínicos, que prevaleceram. O valor da contagem direta de células somáticas e o percentual de isolamento bacteriano, que caracterizam a infecção intramamária, apresentaram valores aumentados à medida que se intensifica a reação do CMT. Uma alta sensibilidade antimicrobiana foi verificada para as bactérias Gram positivas frente à ampicilina, cefalotina e cefoxitina e para as bactérias Gram negativas houve uma boa sensibilidade frente à ampicilina, cefoxitina e sulfazotrim.

**Palavras-chave:** Infecção intramamária, fases da lactação, composição láctea, contagem de células somáticas, etiologia, perfil de sensibilidade.

## ABSTRACT

### **Dynamics of the intramammary infection in Santa Inês ewes during lactation and its impact on the physical-chemical composition of milk.**

- This study aimed to evaluate the dynamics of the intramammary infection on different stages of lactation (beginning, middle and ending) and its impact in the physical-chemical composition of milk from Santa Inês ewes. Thirty four primiparous and multiparous Santa Inês ewes raised under semi-intensive and submitted to the same sanitary and nutritional management during all lactation period were studied. The moments of evaluation and sampling were approximately 10 days before parturition (colostrum formation phase), 15 days postpartum (dpp), 30 dpp, 60 dpp and 90 dpp (weaning), moments in which it was conducted clinical examination of the mammary gland. The bacteriological and susceptibility profile of isolates were performed at all times; and in the postpartum moments also perform the direct counting of somatic cells (SCC) and physico-chemical evaluation of milk (fat, protein and lactose contents, density, Dornic acidity, electric conductivity, pH and chloride content). Based on bacterial growth samples were characterized as being from healthy (G1) or infected mammary glands (G2) in the respective moments. Variance analysis was employed and the F statistics with its respective level of significance (p) was calculated; in the descriptive study of the variables studied it was used a frequency distribution (%). All ewes were seronegative for lentiviruses. It was observed an elevation ( $P < 0,05$ ) in the somatic cell count, characterizing the inflammatory process with consequent elevation, although mild, in the fat, protein and chloride contents, pH elevation and reduction in lactose content, and those alterations were more significant in the final stage of lactation. The pre-parturition phase showed a high percentage of bacterial isolation from apparently healthy mammary glands, as well as at the end of lactation. Coagulase-negative Staphylococcus was the most frequently isolated from subclinical cases, which prevailed. The value of somatic cell direct count and the percentage of bacterial isolation which characterize the intramammary infection showed elevated values insofar as it intensifies the reaction of the CMT. A high antimicrobial sensitivity to ampicilin, cefalotin and cefoxitin was verified for Gram-positive bacteria. As for Gram-negative bacteria a good sensitivity to ampicilin, cefoxitin and sulphazotrin was verified.

**Key-words:** Intramammary infection, lactation stages, milk composition, somatic cell direct count, etiology, sensitivity profile.

## LISTA DE FIGURAS

### *Capítulo 1*

- Fig. 1.** Valores médios da contagem de células somáticas (CCS) (células/mL) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ... **50**
- Fig. 2.** Valores médios do teor de gordura (%) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ..... **51**
- Fig. 3.** Valores médios do teor de proteína (%) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ..... **51**
- Fig. 4.** Valores médios do teor de lactose (%) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ..... **52**
- Fig. 5.** Valores médios da densidade (a 15°C) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ..... **52**
- Fig. 6.** Valores médios da acidez Dornic (°D) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ..... **53**
- Fig. 7.** Valores médios do pH do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ... **53**
- Fig. 8.** Valores médios da condutividade elétrica (mS/cm) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ..... **54**
- Fig. 9.** Valores médios do teor de cloretos (mEq/L) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação ..... **54**

### *Capítulo 2*

- Fig. 1.** Percentual de isolamento bacteriano das amostras de leite (n=80) de ovelhas da raça Santa Inês acompanhadas antes do parto e durante a fase da lactação ..... **68**

## LISTA DE QUADROS

### *Capítulo 1*

- Quadro 1.** Valores médios e desvios padrão ( $x \pm s$ ) da contagem de células somáticas (CCS) e das características físico-química de amostras de leite (n=250) de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases da lactação ..... **61**

### *Capítulo 2*

- Quadro 1.** Percentual de amostras de leite de ovelhas da raça Santa Inês não reagentes e reagentes (1+, 2+, 3+) no CMT em diferentes fases da lactação ..... **66**
- Quadro 2.** Percentual de ocorrência de mastite subclínica nas glândulas mamárias de ovelhas da raça Santa Inês acompanhadas durante as fases da lactação ..... **66**
- Quadro 3.** Valores médios e desvios padrão ( $x \pm s$ ) da contagem de células somáticas (CCS) de acordo com as respectivas reações no CMT do leite de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases da lactação ..... **67**
- Quadro 4.** Frequência de isolamento bacteriano (%) nas amostras de leite de ovelhas Santa Inês de acordo com a reação na prova do CMT ... **68**
- Quadro 5.** Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativo e *Streptococcus* spp. isolados do leite de ovelhas da raça Santa Inês ..... **70**
- Quadro 6.** Sensibilidade antimicrobiana das bactérias Gram-negativas isoladas de leite de ovelhas da raça Santa Inês ..... **71**

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1</b>	Objetivo Geral .....	<b>15</b>
<b>2.2</b>	Objetivos Específicos .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>Mastite Ovina</b> .....	<b>16</b>
<b>3.2</b>	<b>Diagnóstico</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2.1</b>	<i>California Mastitis Test (CMT)</i> .....	<b>20</b>
<b>3.2.2</b>	Células Somáticas .....	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Etiologia</b> .....	<b>25</b>
<b>3.4</b>	<b>Alterações nos componentes físico-químicos do leite</b> .....	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>34</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGOS CIENTÍFICOS</b> .....	<b>47</b>
<b>5.1</b>	Influência da infecção intramamária sobre as características físico-químicas do leite de ovelhas Santa Inês acompanhadas durante a lactação .....	<b>47</b>
<b>5.2</b>	Dinâmica celular e microbiológica do leite de ovelhas Santa Inês acompanhadas durante a lactação .....	<b>62</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>75</b>
<b>7</b>	<b>ANEXO (Normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira)</b> .....	<b>76</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta um cenário favorável à expansão da ovinocultura, contando com um rebanho de 16.812.105 animais, destes a região Nordeste detém 9.566.776, que corresponde a 56,9% da população nacional. Neste quadro, o Estado de Pernambuco possui o 4º maior rebanho de ovino da região, com um efetivo de 1.487.228 animais (IBGE, 2009). A exploração de ovinos na região é uma opção viável e rentável não somente para pequenos e médios produtores, como também para grandes pecuaristas (ALENCAR & ROSA, 2006).

O rebanho ovino brasileiro apresenta tendência de crescimento devido à elevação da demanda e consequente valorização da carne, o que torna a ovinocultura de corte uma atividade lucrativa (DIAS et al., 2009). Embora não seja tão recente como atividade pecuária, vem sendo adotada como atividade paralela por grandes produtores e se firmando, nos últimos anos, como alternativa para os pequenos e médios produtores rurais, pois permite a utilização de mão-de-obra familiar e suas instalações são simples e de baixo custo (AZEVEDO & ANTONIALLI, 2008).

Os aspectos geográficos do Nordeste brasileiro, permitem caracterizá-lo como região vocacionada para a produção de pequenos ruminantes, não só por deter grande parte do rebanho nacional, mas principalmente pela importância sócio-econômica que esta atividade representa (MEDEIROS, 2002). Dentre as raças de ovinos oriundas e criadas na região destaca-se a Santa Inês, de aptidão para corte, por apresentar rusticidade e resistência às condições áridas, bom desenvolvimento ponderal e se reproduz o ano todo, representando excelente opção para matrizes em sistemas de produção, que envolvam cruzamento industrial. Por ser originária das raças Bergamácia e Morada Nova expressa características, que beneficiam a produção de leite, favorecendo o aleitamento e o peso dos cordeiros, no entanto em situações de manejo semi-intensivo e intensivo, em decorrência de uma alimentação mais rica, observa-se maior pré-disposição para à infecção intramamária, pois o leite excedente não é consumido pelo borrego (SOUSA et al., 2005; OLIVEIRA, 2006).

Paralelamente ao crescimento da ovinocultura observamos o surgimento de algumas enfermidades, que comprometem a produtividade do rebanho, dentre as quais a mastite (COSTA et al., 2001), responsável por 46% dos descartes de ovelhas, fato que muitas vezes ocorre precocemente, em função das alterações do úbere (LANGONI, 2005). Outro aspecto importante é a redução na produção de leite que interfere no crescimento do cordeiro. Nos casos clínicos, não haverá leite disponível, e se as duas metades estiverem afetadas, o cordeiro

estará fatalmente prejudicado, tornando-o suscetível às infecções com aumento da mortalidade e, conseqüentemente inviabilizar a produção (KIRK & GLENN, 1996).

Nos últimos anos a ocorrência da mastite tem assumido importância em rebanhos destinados à produção de leite, e também com aptidão para carne, pois algumas formas da enfermidade têm impacto significativo sobre as ovelhas, outras alteram a produção e os componentes do leite e, algumas influenciam no desenvolvimento dos animais lactentes, acarretando sérias perdas ao criador (WATSON & BUSWELL, 1984; VAZ, 1996; WINTER, 2001; DOMINGUES & LEITE, 2003; OLIVEIRA, 2007; SANTOS et al., 2007; ALMEIDA, 2008), devido o aumento em despesas com assistência veterinária, medicamentos e substituição de matrizes decorrente da redução de sua vida útil pela perda ou comprometimento da glândula mamária e conseqüente desvalorização comercial do animal (SANTIAGO et al., 2009). Se comparado aos efeitos na vaca e na cabra, pode acarretar a perda total da glândula mamária e até a morte da ovelha e/ou do borrego (MENZIES & RAMANOON, 2001; OLIVEIRA, 2007; RADOSTITIS et al., 2007; SANTOS et al., 2007).

Na mastite subclínica não se detecta alterações na secreção láctea e no úbere, embora possa ser observada redução na produção de leite, alterações na sua composição físico-química, aumento do número de células somáticas e isolamento de microrganismos, representando um grande entrave na produtividade dos rebanhos por acarretar perdas qualitativas, que comprometem a alimentação dos borregos (GREEN, 1984; NACCARI et al., 2003; ANDERSON et al., 2005; SANTOS et al., 2007).

A mastite subclínica assume grande importância pela associação significativa entre o aparecimento de mastite clínica a partir de casos subclínicos anteriores, causada pelo mesmo agente etiológico, acarretando o comprometimento da cadeia produtiva, sendo uma das razões mais frequentes do descarte de matrizes nos rebanhos ovinos (WATKINS et al., 1991; MENZIES, 2000; OLIVEIRA, 2006), assumindo elevada relevância econômica em virtude dos prejuízos na produção e da maior ocorrência comparativamente às formas clínicas da doença, representando um problema em potencial não somente para os rebanhos leiteiros, como também de aptidão para corte (SANTIAGO et al., 2009).

Segundo Watkins et al (1991), a prevalência da mastite subclínica aumenta com a idade, sendo observada associação significativa entre a forma subclínica e a ocorrência de mastite clínica, causada pelo mesmo agente etiológico. Dentre os agentes causadores da mastite em ovelhas, o *Staphylococcus* spp. são os mais frequentemente diagnosticados. Outros microrganismos também têm sido relatados como causadores de mastite clínica, entre os quais *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*, *Corynebacterium bovis*, *Actinomyces pyogenes*,

*Histophilus ovis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (KIRK & GLENN, 1996; MENZIES & RAMANOON, 2001; WINTER, 2001, OLIVEIRA, 2007). Como agentes de mastite subclínica destaca-se os *Staphylococcus* coagulase-negativo, já tendo sido também relatados *S. aureus*, *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., enterobactérias, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas* spp. (KIRK & GLENN, 1996; MENZIES & RAMANOON, 2001; McDOUGALL et al., 2001; COUTINHO et al., 2006, ALMEIDA, 2008).

As alterações físico-químicas da composição do leite também são utilizadas para diagnosticar indiretamente as mastites, notadamente as subclínicas, por sua forma silenciosa de manifestação (SILVA, 1999), uma vez que as infecções da glândula mamária provocam redução da produção e mudança da composição do leite, que variam de acordo com a intensidade e a duração das infecções (BRITO et al., 1997). Em função dessa inflamação, podem ocorrer alterações significativas nas concentrações de alguns componentes sintetizados pela glândula mamária (RADOSTITS et al., 2007). Essas alterações podem ser desencadeadas pelo aumento da permeabilidade vascular, lesão do epitélio secretor, ação de enzimas e microrganismos no leite (FONSECA & SANTOS, 2000).

Nas ovelhas, particularmente com aptidão para corte, os estudos de acompanhamento de rebanhos durante a lactação são escassos, restringindo em sua grande maioria à investigações pontuais. Para alguns autores, vários fatores podem aumentar o risco de infecção em determinadas fases da lactação, porém, ainda não está esclarecida a dinâmica celular e o período de maior susceptibilidade à infecções durante a lactação, assim como o impacto da infecção sobre as características qualitativa e quantitativa dos componentes do leite.

## **2. OBJETIVOS**

### ***2.1 – Objetivo Geral***

Avaliar a dinâmica da infecção intramamária nas diferentes fases da lactação (início, meio e final) e seu impacto sobre a composição físico-química do leite em ovelhas da raça Santa Inês.

### ***2.2 – Objetivos Específicos***

- Avaliar clinicamente a glândula mamária das ovelhas;
- Avaliar a celularidade do leite por meio da contagem direta de células somáticas;
- Identificar os agentes etiológicos envolvidos na dinâmica do processo infeccioso, bem como o perfil de sensibilidade destes frente a diferentes antimicrobianos;
- Avaliar a influência da infecção intramamária sobre as características físico-químicas do leite, como gordura, proteína, lactose, densidade, pH, acidez Dornic, condutividade elétrica e teor de cloretos.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 – Mastite Ovina

O desencadeamento da mastite está vinculado à complexa tríade – animal, agente etiológico e meio ambiente. Os fatores determinantes que influenciam na susceptibilidade à mastite incluem: resistência natural da glândula mamária, estágio da lactação, genética, idade do animal, espécie, infectividade e patogenicidade do agente (PRESTES et al., 2002).

A mastite em ovinos é conhecida e estudada há muitos anos em países onde a produção de leite ovino tem importância econômica como na França e Inglaterra (VAZ, 1996). Pouco se conhece sobre as características da glândula mamária da ovelha, particularmente as de aptidão para corte, em que a mastite pode gerar perdas para o criador pelo acometimento parcial ou total da glândula mamária e até a morte da ovelha e/ou do borrego (MENZIES & RAMANOON, 2001; OLIVEIRA, 2007; RADOSTITIS et al., 2007), sendo necessário um trabalho de educação continuada junto aos produtores, com o intuito de fortalecer a adoção de medidas higiênico-sanitárias (ALMEIDA, 2008).

A mastite em ovinos, assim como nas espécies bovina e caprina, representa um fator limitante na produção de leite, já que podem ocorrer modificações significativas nos teores dos componentes e diminuição na quantidade produzida. A influência negativa sobre o leite, é capaz também de prejudicar a cadeia produtiva da carne comprometendo, desta maneira, a sustentabilidade da atividade (FIGUEIRÓ, 1990; LANGONI, 2005), devido ao impacto econômico ocasionado pelo abate e mortalidade das ovelhas, mortes por inanição do cordeiro, redução na produção de leite, alteração nos componentes do leite, redução no crescimento do cordeiro na ausência de alimentação suplementar, gerando aumento dos custos do trabalho e diminuição dos lucros (KIRK et al., 1996; COSTA et al., 2001; BIANCHI et al., 2004; MENDONÇA et al., 2005; RAYNAL-LJUTOVAC et al., 2007; TANGORRA et al., 2010).

A forma subclínica pode acarretar menor taxa de crescimento e maior mortalidade dos cordeiros, pela redução da produção de leite. Dessa forma, é necessário maior atenção dos criadores e técnicos no período após duas semanas do parto para assegurar desenvolvimento adequado para as crias (DIAS et al., 2009).

Nos pequenos ruminantes, a diminuição da produção de leite representa a consequência econômica mais importante das infecções intramamárias. Da mesma forma que

em vacas, as perdas são estimadas entre 22,8% a 27,3% nas ovelhas de primeira cria e de 37,3% em fêmeas de segunda cria. Estes valores variam segundo as características da infecção. Nas infecções unilaterais estas perdas situam-se em 11,5% da produção total, enquanto que se ocorrerem infecções bilaterais estas perdas podem chegar a 58,3% do total do leite produzido (KIRK et al., 1996; SILVA, 1999).

Em um estudo realizado por Saratsis et al. (1999), a mastite subclínica induzida experimentalmente por *Staphylococcus epidermidis*, gerou diminuição de até 55% na produção de leite de ovelhas leiteiras, representando perdas econômicas aos criadores, desclassificação do leite devido à alta contagem bacteriana e de células somáticas, contribuindo para o impacto negativo da doença.

O índice de prevalência da mastite subclínica em pequenos ruminantes varia de cinco a 30%, mas a incidência anual de mastite clínica é geralmente inferior a 5% (CONTRERAS et al., 2007). Já para Radostitis et al. (2007), a incidência de mastite subclínica variou de 29 a 43% entre os grupos de ovelhas. Segundo Watkins et al (1991), a prevalência da mastite subclínica aumenta com a idade, sendo observada uma associação significativa entre a forma subclínica e a ocorrência de mastite clínica, causada pelo mesmo agente etiológico.

McDougall et al. (2002) relataram a incidência de nova infecção intramamária e a taxa de cura espontânea ao longo de um período de tempo, onde 27,3% e 25,5% das cabras foram infectadas no dia do parto e 40 dias depois, respectivamente, enquanto 15,0% e 9,1% das ovelhas foram infectadas ao parto e 40 dias depois, respectivamente.

Em estudo realizado por Bergonier & Berthelot (2003) a incidência observada de mastite subclínica foi muito variável, 10 a 50%. Resultados superiores foram verificados por Batavani et al. (2003) em estudo de frequência da mastite subclínica em ovelhas, onde o *California Mastitis Test* (CMT) detectou alta prevalência da enfermidade, com 71% dos animais testados de diferentes rebanhos positivos ao teste.

Almeida (2008), pesquisando sobre a mastite subclínica na região do Agreste Meridional de Pernambuco, relataram que dentre as amostras analisadas, 29,51% reagiram ao CMT, obtendo resultados semelhantes aos observados por Domingues et al. (2006) e Coutinho et al. (2006). O impacto da mastite depende da sua prevalência, da forma clínica, do tempo de ocorrência, do objetivo e do sistema de criação (KIRK & GLENN, 1996).

A ocorrência da mastite é mais frequente após o parto, embora possa ocorrer em qualquer período da lactação ou mesmo no período seco, estando os casos mais graves verificados entre duas a quatro semanas após o parto coincidindo com o pico de lactação e algumas vezes logo após o desmame, provavelmente o reflexo de uma infecção durante a

lactação que não foi detectada (VAZ, 1996; MENZIES & RAMANOON, 2001; OLIVEIRA, 2007). Quando o desenvolvimento da doença ocorre durante o período seco ou no final da lactação, geralmente não é percebida até o próximo parto, prejudicando o diagnóstico (MENZIES & RAMANOON, 2001). Para Tatarczuch et al. (1997), o período considerado de maior risco é o final da lactação, caracterizado pela involução da glândula mamária, que tem início no momento em que os borregos são separados de suas mães e tem seu término em aproximadamente 30 dias depois.

A mastite clínica é caracterizada por sinais clínicos sistêmicos (febre, anorexia, fraqueza, toxemia, alteração das frequências cardíaca e respiratória) ou apenas sinais locais (inflamação do úbere e edema, gangrena, alteração da consistência, assimetria e abscessos) e sinais funcionais (modificações macroscópicas e quantitativas da produção de leite) (BERGONIER & BERTHELOT, 2003; SEARS & McCARTHY, 2003; MENDONÇA et al., 2005; OLIVEIRA, 2007; RADOSTITS et al., 2007). Nas ovelhas de corte, alguns casos agudos tornam-se crônicos e persistem por vários meses ou por toda a lactação (BERGONIER & BERTHELOT, 2003; OLIVEIRA, 2007). Santos et al. (2007) após indução experimental, utilizando cepa de *S. aureus* oriunda de um caso de mastite clínica em ovelha, relataram que a mama controle, também diminuiu a produção, bem como, a alteração da composição do leite.

Batavani et al. (2003) definem mastite subclínica como sendo uma inflamação na qual não se observa alterações visíveis na glândula mamária e o leite possui aparência normal, porém, as amostras são reagentes ao CMT e bacteriologicamente positivas. A presença de alta contagem de células somáticas e de patógenos em amostras de leite, particularmente os *Staphylococcus* spp., são sinais de mastite subclínica e devem desencadear medidas profiláticas para evitar a explosão de mastite clínica (MAVROGENIS et al., 1995).

A mastite subclínica não é facilmente detectada, pelo menos durante a lactação, no entanto compromete a produção do animal (MENZIES & RAMANOON, 2001; BERGONIER et al., 2003), tanto no que diz respeito à qualidade como à quantidade do leite (LANGONI, 2005). Em alguns casos pode ocorrer cura espontânea pelo desmame (KIRK et al., 1996). Em muitos casos, são unilaterais (KIRK & GLENN, 1996), pois o septo mamário forma uma barreira efetiva contra a disseminação da infecção para a outra glândula (WINTER, 2001).

Perdas de produção de leite e aumento de CCS em úberes de cabras e ovelhas infectadas tem sido amplamente documentada (GONZALO et al., 1994; GONZALO et al., 2002; LEITNER et al., 2004), sugerindo que as ovelhas são mais vulneráveis do que as cabras nas perdas de rendimento do leite devido à mastite subclínica, porém, apesar da alta

incidência do *Staphylococcus* coagulase-negativo (SCN) ligados a infecção intramamária em ovinos e caprinos, os mecanismos patogênicos relacionados às infecções subclínicas são ainda desconhecidos (CONTRERAS et al., 2007).

### 3.2 – Diagnóstico

Independente da causa, a mastite caracteriza-se por uma série de alterações físicas e químicas do leite bem como modificações patológicas no tecido glandular. As transformações mais importantes, observadas no leite, são a sua coloração, o aparecimento de coágulos e a presença de grande número de leucócitos. A glândula mamária apresenta aumento de volume, elevação da temperatura, dor e endurecimento em muitos casos clínicos. Contudo, uma grande proporção de glândulas acometidas não são facilmente identificadas pela palpação manual ou no exame visual do leite empregando a caneca telada. Em virtude do grande número de casos subclínicos, o diagnóstico da mastite baseia-se principalmente em testes indiretos, que dependem, por sua vez, do conteúdo de leucócitos do leite. A contagem leucocitária aumentada é, na maioria dos casos, uma reação do tecido à agressão, sendo precedida pelas alterações físico-químicas do leite, resultado direto das lesões teciduais (RADOSTITS et al., 2007).

A mastite subclínica é aquela que apresenta resultado positivo ao CMT, ou outros testes indicativos, sendo confirmada pelo crescimento microbiano, sendo a prevalência estimada por meio de análise bacteriológica do leite, CCS individual ou por meio do CMT (KIRK & GLENN, 1996). A mastite subclínica é a que maior prejuízo causa ao produtor. Tendo em vista que não é detectada pelo exame físico da glândula mamária ou do leite, e sua identificação é possível apenas com o auxílio de métodos de diagnóstico confiáveis, estima-se uma prevalência de 15 a 40 vezes superior à mastite clínica (GRUNET, 1990).

O diagnóstico do processo inflamatório da glândula mamária pode ser realizado por exames indiretos que se baseiam em vários critérios de evolução de intensidade da reação inflamatória ou por exames diretos que se fundamentam na identificação do agente etiológico mediante a presença deste no leite analisado (KIRK & GLENN, 1996).

A contagem de células por microscopia direta ou automática, o CMT, assim como outros métodos, têm sido utilizados na detecção da mastite subclínica, que é a forma predominante da doença (McDOUGALL et al., 2001; ALBENZIO et al., 2002). Para Fthenakis & Jones (1990b), além da elevação na contagem de células somáticas, o diagnóstico

da mastite subclínica é estabelecido também pelo isolamento bacteriano e pelo processo inflamatório observado em amostras de biópsia do tecido mamário.

Independente do método de diagnóstico há concordância de que este deva ser utilizado de maneira a identificar os animais doentes o mais breve possível, para que se evite a disseminação da enfermidade, o descarte dos animais, a perda de peso da cria e os gastos com medicamentos (VAZ, 1996; LAS HERAS et al., 1999).

### 3.2.1 - *California Mastitis Test (CMT)*

O CMT é um indicador do estado de inflamação do úbere, de realização prática e rápida na obtenção dos resultados que variam entre os escores negativo (sem alteração na viscosidade e suspeitos ou traços) e positivos, 1+ (pequena alteração da viscosidade), 2+ (formação de viscosidade aparente) e 3+ (formação de muco) (SCHALM & NOORLANDER, 1957). O teste se baseia na alteração do pH e na presença de células. O reagente do teste provoca lise celular e libera o DNA, portanto, o maior ou menor número de células presente no leite determina a maior ou menor intensidade da resposta (ANDERSON et al., 2005).

O teste é uma prova de fácil execução no diagnóstico das mastites subclínicas, econômico e oferece uma idéia muito aproximada da situação sanitária das glândulas mamárias do rebanho (SMITH & ROGUINSK, 1977). O CMT tem sido bem utilizado para vacas e é mais acurado nesta espécie, pois, ovelhas e cabras têm uma alta contagem celular, fragmentos nucleares, partículas citoplasmáticas e gordura em leite normal (RADOSTITS et al., 2007). A capacidade do teste para predizer a infecção intramamária ovina depende da prevalência e do agente etiológico presente no rebanho (HUESTON et al., 1986).

É considerado um teste subjetivo que pode ser usado como triagem nas ovelhas para identificar os animais para cultura bacteriológica, podendo encontrar dentre os selecionados um alto percentual de cultura negativa, produzindo resultados falso-positivos ou falso-negativos, sendo seu emprego, ainda questionado por alguns autores (GREEN, 1984; MAISI et al., 1987; BATAVANI et al., 2003). No entanto, para a grande maioria dos autores, o CMT é considerado o teste indireto mais adequado às condições de campo, como indicador de infecções mastíticas em ovelhas e cabras, e está associado ao aumento do número de células somáticas e isolamento bacteriano, podendo variar de acordo com o operador, raça do animal, patogenicidade das bactérias e rebanho (McDOUGALL et al., 2001; OLIVEIRA, 2006). Este teste pode ser muito útil como triagem para identificação de ovelhas com mastite subclínica, considerando que as chances de seleção de animais com infecção intramamária são maiores

quando amostras consideradas escores de CMT de 1+ ou superiores são selecionadas (MENZIES & RAMANOON, 2001).

Almeida (2008) em estudo da mastite subclínica em ovelhas Santa Inês no Agreste Meridional do estado de Pernambuco verificou forte associação entre a prova do CMT e o resultado bacteriológico, caracterizando a tendência linear crescente entre os resultados obtidos em ambas as provas, indicando maior probabilidade de isolamento bacteriano à medida que intensifica a reação do CMT.

A intensificação do escore de CMT foi positivamente correlacionado com a CCS e presença bacteriana (PYÖRALÄ, 2003, CONTRERAS et al., 2007). A realização conjunta do CMT e da CCS pode auxiliar na identificação prévia de animais suspeitos de mastite e colaborar na seleção de amostras de leite para exames microbiológicos confirmatórios da doença (MARTINS et al., 2009b).

A sensibilidade e especificidade do CMT e CCS foram demonstradas por Berthelot et al. (2006), excedendo 90%, o que constitui o teste como confiável e útil para identificação de infecção intramamária em ovelhas. Berriatua et al. (2001) ratificaram este achado quando ao investigar a ocorrência de mastite subclínica em um rebanho de ovelhas leiteiras, determinaram que os resultados de CMT positivo foram significativamente associados com os resultados de cultivo bacteriológico positivo ( $P < 0,01$ ). Hueston et al. (1986) demonstraram que os resultados positivos ou negativos do CMT dependem da prevalência da doença.

Para Maisi et al. (1987) e Watkins et al. (1991), houve uma boa correlação do CMT com os resultados da contagem de células somáticas e do exame bacteriológico do leite, demonstrando que este teste pode ser confiável e prático em animais de aptidão para carne.

Embora muitos autores tenham encontrado uma boa correlação entre o CMT e o cultivo bacteriológico positivo, ainda são significativas as culturas negativas em amostras reagentes ao CMT (SCHALM et al., 1971). Este fato pode ser justificado pela eliminação intermitente dos agentes bacterianos (BURRIEL, 1998; ALBENZIO et al., 2002), pelo não isolamento nos meios de cultura convencionais de microrganismos mais exigentes (DOMINGUES & LEITE, 2003) como *Mycoplasma* spp. (ANDERSON et al., 2005) e alguns vírus como o Maedi-visna que raramente acarreta sinais clínicos (CONTRERAS et al., 2007), pela participação de algumas enzimas ou proteínas do leite (lisozina e lactoferrina), que poderiam inibir a detecção dos patógenos (ALBENZIO et al., 2002) e pela administração prévia de antimicrobianos (CONTRERAS et al., 2007).

### 3.2.2 - Células Somáticas

A principal causa do aumento da contagem de células do leite é devido à resposta inflamatória da glândula mamária, que na maioria dos casos, é resultado da infecção bacteriana. Como resultado da inflamação, as paredes dos vasos sanguíneos se tornam dilatadas e diversas substâncias do sangue, incluindo os leucócitos, atravessam para o leite. A CCS no leite individual indica o estado sanitário do úbere, enquanto que a CCS no tanque é utilizada como indicativo da qualidade do leite produzido (KORHONEN & KAARTINEN, 1995; BRITO, 2004).

A partir da penetração do patógeno no orifício do teto, uma série de eventos são desencadeados para que o sistema imunológico da glândula mamária impeça a formação de sérias lesões ao seu parênquima. A resposta imune celular primária observada na reação inflamatória aguda é o recrutamento de neutrófilos para a secreção láctea, que é evidenciada por um aumento na contagem de células somáticas, na tentativa de reverter o processo infeccioso, o que acarreta alterações no tecido mamário, as quais podem diminuir a quantidade de leite secretado, modificar a sua composição e interferir no desenvolvimento dos cordeiros (FTHENAKIS & JONES, 1990a).

A CCS também apresenta variações devido a fatores não infecciosos (tais como, estágio e o número de lactação), porém esses efeitos são menores quando comparados aos das infecções intramamárias. No leite de ovelhas bacteriologicamente negativas, as células epiteliais parecem ser menos do que 2-3% das células somáticas, os neutrófilos constituem 10-35%, os macrófagos 45-85% e os linfócitos 10-17% do total (BERGONIER et al., 2003).

O mecanismo de primeira linha na defesa da glândula mamária é realizado pelos leucócitos polimorfonucleares (PMN), o comprometimento destes no sangue tem sido associado em maior suscetibilidade à infecções bacterianas (MEHRZAD et al., 2002). No interior da mama, os neutrófilos e macrófagos realizam a fagocitose de bactérias e tecidos necróticos, e os linfócitos são responsáveis pelo reconhecimento de antígenos e por montar a resposta imunológica mediada por células (PEREIRA et al., 2000).

A contagem de células somáticas (CCS) representa uma ferramenta valiosa na avaliação da prevalência e no diagnóstico da mastite em ovelhas (BERGONIER et al., 2003; CONTRERAS et al., 2007), sendo um bom indicador da mastite subclínica (GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ et al. 1995).

A contagem de células somáticas no leite de ovelhas e de cabras são relativamente maiores que as de vacas, variando de 0 a  $5,0 \times 10^5$  células/mL e em situações de inflamação

moderada pode-se encontrar valores entre  $5,0 \times 10^5$  células/mL a  $2,0 \times 10^6$  células/mL, sendo seus valores inversamente proporcionais à produção de leite, assim, à medida que a produção diminui no final da lactação, a CCS aumenta (ANDERSON et al., 2005). Em ovelhas, as contagens são maiores durante as primeiras semanas de lactação e diminui quando ocorre a máxima produção de leite (BERGONIER et al., 2003).

As células somáticas se elevam em intensidade variável em detrimento do tipo de agente etiológico envolvido no processo infeccioso (GREEN, 1984). Valores médios de CCS foram de 932.000 células/mL segundo relatos de Anderson et al. (2005) em pesquisa com glândulas mamárias infectadas por *Staphylococcus* coagulase-negativo, enquanto infecções por outros patógenos apresentaram média de 2.443.000 células/mL e a média em amostras sadias foi de 272.000 células/mL.

Os valores médios da contagem de células somáticas em amostras de leite de glândulas de ovelhas Chios na Grécia com mastite causada principalmente por *Staphylococcus* coagulase-positivo apresentaram contagens acima de  $2 \times 10^6$  células/mL, onde um aumento de  $0,5 \times 10^6$  células/mL acima da média resultou em diminuição da produção diária individual de 18 g de leite (MAVROGENIS et al., 1995).

Um estudo realizado com vacas leiteiras no Brasil, mostrou que a infecção intramamária foi o fator responsável pelo aumento da CCS, sendo o *Streptococcus agalactiae* o responsável pelo maior aumento, quando comparado à infecção por *S. aureus*, *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* coagulase-negativo (SOUZA et al., 2009), o que ressalta a grande capacidade deste agente em promover intensa reação na glândula mamária (DELLA LIBERA et al., 2001). A resposta celular observada em infecções por diferentes espécies de *Streptococcus* spp. foi relatada em vacas por Elias et al. (2005) onde o valor da CCS nas glândulas infectadas por *S. agalactiae* foi de  $2,29 \times 10^6$  células/mL, e em búfalas infectadas com cocos catalase-negativos por Vianni (1997) onde verificou valores máximos de  $1,1 \times 10^6$  células/mL, estando este microrganismo responsável por altas CCS.

O limite estabelecido nos Estados Unidos para as cabras e ovelhas é de  $1,0 \times 10^6$  células/mL, pois valores abaixo deste limite foram encontrados em 98,1% das glândulas sadias analisadas (PAAPE et al., 2001). No Sul do Brasil, Brito (2004) relatou valores médios de CCS de  $1,7 \times 10^5$  células/mL para metades mamárias sadias de ovelhas Lacaune. Almeida (2008), em estudo com ovelhas da raça Santa Inês no Agreste Meridional do estado de Pernambuco, verificou valores médios da CCS em amostras não reagentes ao CMT de  $1,57 \times 10^5$  células/mL, já em amostras reagentes variaram de  $1,01 \times 10^6$  –  $8,42 \times 10^6$  células/mL de acordo com a intensidade da reação do teste.

As amostras que apresentam valores inferiores a  $5 \times 10^5$  células/mL com isolamento positivo e amostras com contagens superiores a  $5 \times 10^5$  células/mL e isolamento negativo, provavelmente se devem a animais portadores assintomáticos, processos inflamatórios não infecciosos, tratamentos recentes para mastite, além da possibilidade de baixa patogenicidade do agente, do não isolamento do microrganismo em apenas um exame ou da presença de agentes infecciosos com exigências de crescimento incompatíveis com os meios de cultivo empregados (BURRIEL, 1998; HARTMAN et al., 2007).

Fthenakis (1996) evidenciou o aumento nos valores médios da CCS de ovelhas leiteiras diante de razões não infecciosas como variação diurna e estágio da lactação, enquanto que a raça e o número de parição não afetaram a contagem. O aumento progressivo na contagem de células somáticas em cabras e ovelhas durante a lactação na ausência de infecção foram relatados por Gonzalo et al. (1994), que atribuíram este efeito da concentração de células à redução fisiológica da produção de leite.

Das & Singh (2000) observaram em cabras leiteiras que a tendência da CCS em diferentes períodos da lactação é de permanecer elevada no início de lactação, e com o estabelecimento da lactação a CCS se estabilizar em níveis basais. Para Voltolini et al. (2001), a CCS em relação aos estágios da lactação apresentou um acréscimo numérico no início e no final da lactação, porém esses valores não mostraram diferenças significativas, podendo ser explicado pelo fato do rebanho bovino estudado apresentar um bom manejo higiênico sanitário e, principalmente, apresentar uma baixa CCS durante toda a lactação, dificultando oscilações da mesma.

A CCS é a base dos programas de controle de leite para vacas, cabras e ovelhas em outros países (PYÖRÄLÄ, 2003) podendo ser realizada por microscopia óptica direta (PRESCOTT & BREED, 1910) e por métodos automatizados (GREEN, 1984). Schalm et al. (1971) citaram o método microscópico direto de Prescott & Breed (1910) como um dos melhores testes para avaliação precisa do número de células somáticas do leite. Para Madureira et al. (2010), a contagem por microscopia direta é o método quantitativo mais confiável para a determinação da celularidade do leite de cabras, quando comparado aos métodos automático ou qualitativo (CMT) de contagem celular.

A CCS por métodos eletrônicos tem sido discutida por alguns autores como passíveis de adequação, considerando que a padronização dos aparelhos costuma ser realizada utilizando-se leite de vacas, o que, apesar de garantir menor custo na realização do teste desconsidera as diferenças entre as características celulares das espécies. Aliado ao custo de calibração com leite de ovelha, ainda existe a dificuldade de aceitação deste procedimento por

parte dos laboratórios que rotineiramente trabalham com amostras de leite de vaca (OLIVEIRA, 2006).

A alta contagem de células somáticas e a diminuição da produção de leite estão associadas às infecções subclínicas, onde se faz necessária a implantação de programas de controle da enfermidade para melhoria da qualidade do leite e aumento do retorno econômico da produção. A mensuração da CCS em leite de ovelhas pode ser um recurso efetivo para monitoramento de mastite subclínica (GONZALO et al., 2002).

### 3.3 – ETIOLOGIA

O relaxamento fisiológico do canal do teto após a mamada do cordeiro ou após a ordenha facilita a instalação de patógenos na glândula. Assim como em outras espécies animais, a mastite em pequenos ruminantes desenvolve-se principalmente quando os microrganismos conseguem romper as barreiras de defesa imunológica do animal. Normalmente, o ingresso dos agentes microbianos ao interior da glândula ocorre pelo óstio do teto, podendo colonizar apenas a membrana mucosa da cisterna do teto ou até mesmo progredir por toda a glândula mamária (RADOSTITS et al., 2007).

Um estímulo inflamatório, infeccioso ou não, determina a reação local, representada pela liberação, ativação e síntese de mediadores químicos, que se manifesta por alterações hemodinâmicas e hematológicas. A grande quantidade de mediadores derivados do plasma ou das células, assim como a atuação dos mecanismos de defesa da glândula mamária, podem influenciar a sobrevivência de microrganismos como o *Staphylococcus aureus* e, desta maneira, modificar as taxas de recuperação espontânea de quartos mamários com mastite subclínica (SOL et al., 1997). A literatura varia consideravelmente no que se refere ao nível patogênico da doença, no entanto, se a infecção e/ou a presença de inflamação afeta negativamente o nível de produção ou a qualidade dos produtos lácteos de ovelhas, então é importante para a indústria (MENZIES, 2000).

O padrão ouro para o diagnóstico de infecções intramamárias é a cultura bacteriana (CONTRERAS et al., 2007). Caso o leite de uma das metades do úbere apresente reação fortemente positiva ao CMT ou alta CCS, comparada com a glândula contralateral, justifica-se o diagnóstico de mastite subclínica, devendo-se realizar a cultura bacteriológica (ANDERSON et al., 2005). Devido à impossibilidade de observação de sintomatologia nas

mastites subclínicas, sempre que possível, deve ser realizado o isolamento para a identificação do agente etiológico (OLIVEIRA, 2006).

As bactérias são os principais agentes etiológicos, onde, o gênero *Staphylococcus* spp. é isolado com maior frequência. Destes, o *S. aureus* é comumente isolado nos casos clínicos enquanto que os *Staphylococcus* coagulase-negativo (SCN) nas infecções subclínicas. Há também relatos de outros agentes isolados, como os *Streptococcus* spp., coliformes, corinebactérias, dentre outras (ARIZNABARRETA et al., 2002; BERGONIER et al., 2003; CONTRERAS et al., 2007). Infecções intramamárias causadas por *S. aureus* devem merecer atenção especial, por serem responsáveis tanto por mastite clínica quanto subclínica, e por sua importância na Saúde Pública, uma vez que produzem enterotoxinas termoestáveis responsáveis por contaminação de produtos lácteos (CONTRERAS et al. 2007).

Vários microrganismos também têm sido relatados como causadores de mastite subclínica, destaca-se os SCN, com relatos também de *S. aureus*, *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., enterobactérias, *Burkholderia cepacia* e *Pseudomonas* spp. (KIRK & GLENN, 1996; KIRK et al., 1996; McDOUGALL et al., 2001; MENZIES & RAMANOON, 2001; BATAVANI et al., 2003; COUTINHO et al., 2006, DOMINGUES et al., 2006, ALMEIDA, 2008). Como agentes de mastite clínica, além do *Staphylococcus* spp., foram descritos casos por *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*, *Corynebacterium bovis*, *Actinomyces pyogenes*, *Histophilus ovis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (MAVROGENIS et al. 1995; KIRK & GLENN, 1996; MENZIES & RAMANOON, 2001; WINTER, 2001, CONTRERAS et al., 2007; OLIVEIRA, 2007).

Coutinho et al. (2006) realizaram um estudo etiológico da mastite em ovelha no estado da Bahia, sendo observada elevada frequência de *Staphylococcus* coagulase-negativo (57,6%), seguido do *S. aureus* (15,2%), *Micrococcus* spp., (15,2%) e *Streptococcus* spp. (12%). Ebrahimi et al. (2007) realizaram o cultivo bacteriológico em amostras de leite de ovelhas que reagiram ao CMT, e observaram que as bactérias isoladas foram: *Mycoplasma* spp. (47,37%), SCN (36,8%), *S. aureus* (10,5%), *Streptococcus* spp. (10,5%) e *Pasteurella* spp. (5,26%).

Tradicionalmente, o SCN é considerado como não-patogênico ou de baixa patogenicidade para a glândula mamária de ruminantes domésticos, podendo destacar a importância desta bactéria como agente etiológico da mastite ovina, pois são isolados de casos de campo em mastite clínica, bem como, o principal agente causador da mastite subclínica (FTHENAKIS & JONES, 1990b; BERGONIER et al. 2003; ALMEIDA, 2008). Devido à

persistência de alguns casos subclínicos, que acarretam aumento significativo do número de células somáticas e, conseqüentemente, dão origem a casos clínicos (ARIZNABARRETA et al., 2002; McDOUGALL et al., 2002; CONTRERAS et al., 2007) devendo desencadear medidas profiláticas em detrimento da esperada redução na produção diária de leite (MAVROGENIS et al., 1995).

Fthenakis (1998), relatou que o SCN está presente em 43,5% dos tetos e 24,5% da cisterna do teto de glândulas sadias (sem parênquima infectado), sendo a possível razão de bactérias isoladas de amostras com CCS menores que um milhão, podendo-se considerar como possíveis sítios de origem. Várias espécies desta bactéria são relatadas tanto em isolamentos de amostras de leite como da pele dos tetos de ruminantes domésticos, tais como, o *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. xylosum* e algumas cepas de *S. hyicus*, são os mais importantes (BURRIEL, 1998; LAS HERAS et al., 1999).

Arsenault et al. (2008) sugerem a existência de um elo que relacione a mastite clínica à mastite subclínica de ovelhas, já que se observa uma predominância de SCN e de *S. aureus* nas duas apresentações da mastite, podendo haver a possibilidade da existência de fatores de risco em comum ou de uma forma atuar como predisponente da outra.

O *S. aureus* desperta muito interesse entre os pesquisadores mundiais, pois se caracteriza por colonizar o canal do teto, situando-se em posição estratégica para penetração na glândula mamária e ao penetrar burla as defesas celulares, pois é fagocitado por neutrófilos, e permanece viável no interior destes, ao destruí-los, inicia novas infecções. Este mesmo agente ainda possui a capacidade de encistamento, formando focos encapsulados e de difícil acesso à antibioticoterapia que não possua boa dispersão, o que favorece o desenvolvimento de processos subclínicos e crônicos (SEARS & McCARTHY, 2003).

Outro agente das infecções intramamárias subclínicas e clínicas em ovinos é o *Streptococcus* spp., sendo detectado por Hartman et al. (2007) como segundo gênero de bactéria mais encontrado nas amostras de leite de ovelhas da raça Bergamácia. Vários pesquisadores evidenciaram a presença de *Streptococcus* spp. em rebanhos ovinos e obtiveram isolamentos em leite de glândulas mamárias clinicamente sadias, com percentuais variáveis entre 4% e 25% (GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ et al., 1995; BATAVANI et al., 2003; COUTINHO et al., 2006).

Já Albenzio et al. (2002) observaram em seu estudo que a *Escherichia coli* foi o microrganismo mais frequentemente isolado, principalmente no estágio final da lactação; e ainda, observaram baixa prevalência de mastite subclínica, bem como, baixa frequência de

microrganismos contagiosos, provavelmente devido ao sistema intensivo de criação e aos cuidados higiênicos aplicados durante a ordenha.

O isolamento de microrganismos da família Enterobacteriaceae, tais como *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* e *Klebsiella* spp., associado à ausência de sinais clínicos nos animais não é um achado comum, já que as mastites causadas por enterobactérias geralmente demonstram evidências clínicas (DRESCHER et al., 2010). Em estudo realizado por Oliveira (2006), analisando o leite de ovelhas da raça Santa Inês de um rebanho do Estado de Sergipe, evidenciou que 14% das amostras positivas ao isolamento bacteriano eram de enterobactérias. Almeida (2008), verificou que as enterobactérias representaram 4,7% do total de bactérias isoladas de casos subclínicos de mastite em ovelhas. A presença de enterobactérias no leite de ovelhas com mastite subclínica chama a atenção para a possibilidade destas bactérias desencadarem quadros clínicos de mastite, tendo em vista os fatores de virulência inerentes à estes agentes, aliado à condição de estresse do animal (SANDHOLM & PYÖRÄLÄ, 1995).

No controle de mastite estafilocócica (clínica e subclínica) em ovinos, a terapia antimicrobiana continua a desempenhar um papel importante, sendo estes utilizados predominantemente durante a lactação e, menos frequentemente, durante o período seco (ONNI et al., 2011). No entanto, o uso indiscriminado de agentes antimicrobianos para tratamento de mastite pode ocasionar o aumento dos níveis de resistência de muitos microrganismos a estas drogas (CONTRERAS et al., 2007).

Para Domingues et al. (2006), onde o microrganismo mais frequente no estudo em metades mamárias de ovelhas Santa Inês foi o *Staphylococcus* spp., as drogas de melhor eficácia foram o florfenicol (87,5%), gentamicina (81,2%), cefalexina (79,5%) e enrofloxacina (70,5%), no entanto, nos *Streptococcus* spp. evidenciou-se que as drogas que obtiveram melhor eficácia foram o florfenicol, gentamicina e cefalexina.

A maioria das cefalosporinas e cloxacilina são eficazes contra a  $\beta$ -lactamase produzida pelo *Staphylococcus* spp., mas as cefalosporinas têm a vantagem de serem eficazes contra *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp. e são, portanto, úteis no tratamento precoce da mastite aguda, onde o agente causal ainda não foi identificado. Clindamicina e lincomicina também são eficazes contra *Mycoplasma agalactiae*, este organismo é um agente altamente prevalente na etiologia da mastite em ovelhas, em países da península dos Balcãs e no Médio Oriente. Embora esses agentes antimicrobianos devam ser usados com cautela e de forma restritiva para evitar a seleção de bactérias resistentes; eles são cada vez mais prescritos, porque os problemas diários da infecção prevalecem aos de infecções futuras (FTHENAKIS, 1998).

As maiores taxas de susceptibilidade foram observadas para a associação de lincomicina com estreptomicina (86,02%), josamicina com trimetoprim (67,44%) e doxiciclina (61,44%) nos testes de sensibilidade *in vitro* contra os agentes da mastite ovina (DRESCHER et al., 2010). As associações entre antimicrobianos aumentam as taxas de susceptibilidade dos isolados bacterianos, devido ao aumento do espectro de ação, fato este importante, já que a mastite é uma enfermidade de etiologia múltipla, sendo isolados microrganismos Gram positivos e Gram negativos (LANGONI et al., 2000).

O desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos é um processo de seleção, que ocorre com o tempo e o uso indiscriminado. O emprego de princípios mais antigos não deve ser excluído, pois em algumas fazendas a sua eficácia pode ainda ser elevada. As combinações de agentes antimicrobianos (por exemplo, penicilina e neomicina) também devem ser consideradas, porque podem ser simultaneamente eficazes contra muitas bactérias que causam mastite, permitindo assim um amplo espectro de eficácia. A mastite subclínica não é clinicamente detectável e geralmente permanece sem tratamento, daí o fato do maior número de isolados serem sensíveis, talvez por não serem expostos a antimicrobianos tão frequentemente quanto os isolados da mastite clínica (FTHENAKIS, 1998).

### **3.4 – ALTERAÇÕES NOS COMPONENTES FÍSICO-QUÍMICOS DO LEITE**

A qualidade do leite produzido é altamente influenciada pela saúde da glândula mamária. As ovelhas Santa Inês parecem ser mais susceptíveis a mastite devido a sua aptidão de produção de leite (originária da raça Bergamácia e Morada Nova) associada à realização de desmame precoce por exigência do mercado consumidor e pela falta de cuidados higiênico-sanitários nas criações (OLIVEIRA, 2006).

A composição do leite é influenciada principalmente pelo estado sanitário do rebanho, manejo dos animais e principalmente pela presença de microrganismos (DÜRR et al., 2001). Diversos outros fatores podem ocasionar variações no leite, tais como: ambiente, raça, idade, estágio da lactação e número de crias. Pode-se citar ainda, o tipo de ordenha, manejo e nutrição durante a gestação, porção da ordenha, estação do ano, produtividade e persistência da lactação, tamanho do animal e prenhez (ASSENAT, 1991; BENCINI & PULINA, 1997).

Reações inflamatórias alteram a composição do leite em termos de quantidade e qualidade, onde vários fenômenos relacionados com a inflamação ocorrem simultaneamente, como a seguir: a permeabilidade dos vasos sanguíneos aumenta resultando na passagem de

íons e proteínas do sangue para o leite; as células inflamatórias passam do sangue para o leite; as células que produzem leite se tornam menos eficientes, podendo ainda ser destruídas e haver liberação de enzimas ocasionando diminuição da quantidade de leite (KORHONEN & KAARTINEN, 1995).

As consequências deletérias da mastite no leite são mais significativas em pequenos ruminantes em comparação às vacas leiteiras (LEITNER et al., 2004), sendo, as alterações físico-químicas da composição do leite, também utilizadas para diagnosticar indiretamente as mastites, notadamente as mastites subclínicas, por sua forma silenciosa de manifestação (SILVA, 1999).

Os principais fatores relacionados à alteração dos componentes do leite são as lesões das células produtoras de leite, que podem resultar em alterações da concentração de lactose, proteína e gordura, e aumento da permeabilidade vascular, que determina o aumento da passagem de substâncias do sangue para o leite, tais como sódio, cloro, imunoglobulinas e outras proteínas séricas (STEFFERT, 1993).

Nas mastites subclínicas, o leite é caracterizado pela alcalinização do pH, aumento do número de células somáticas e diminuição da produção (RADOSTITS et al., 2007). Tronco (2003) justifica estas alterações pelo fato do leite ter uma composição que favorece o desenvolvimento de diversos grupos de microrganismos, que podem provocar alterações.

Segundo Vivar-Quintana et al. (2006), o aumento da CCS no leite de ovelha, acarreta elevação do pH e diminuição da teor de lactose, porém segundo Rodrigues et al. (1995), os valores obtidos da acidez titulável e dos teores de gordura, proteína e sólidos totais não foram significativamente influenciados pela CCS e, em poucos casos, a infecção na glândula mamária pôde provocar o aparecimento de leite com maior acidez titulável.

Nunes et al. (2007) concluíram que a mastite em ovelhas acarretou em menor produção de lactose e um aumento do pH e do conteúdo de cloretos, o que indica um aumento da permeabilidade vascular e uma redução na biossíntese de lactose pelas células alveolares, porém, não foram observadas diferenças estatísticas entre as outras variáveis (gordura, proteína e sólidos totais), o que pode estar influenciado por outros fatores como estágio lactacional, número de parições e dieta.

A gordura é o componente do leite que tem maior amplitude de variação e dependendo da dieta dos animais pode variar entre duas e três unidades percentuais (BRITO, 2004). O teor de gordura tende a ser menor no início e aumentar conforme se aproxima o final da lactação, já que a produção de leite diminui nesta fase (BIANCHI et al., 2004). Os teores de gordura ao

longo da lactação de ovelhas da raça Lacaune foram citados por Assenat (1991), variam de 5,97% no começo da lactação progredindo até 8,38% no final do período.

A maior parte das alterações que ocorrem no teor da gordura do leite, como consequência do processo inflamatório são discretas e, em muitos casos, não detectadas até que a infecção se torne grave (KITCHEN, 1981). O aumento da gordura nas glândulas infectadas pode ser justificado pela redução do volume de leite, conhecido como “efeito diluição”, em conjunto com a elevação do teor de soroproteínas (KITCHEN, 1981; LEITNER et al., 2004; MARTINS et al., 2009a).

Densidade é o peso específico do leite, determinado pela concentração de elementos em solução e suspensão e pela porcentagem de gordura. Como a água apresenta densidade de 1g/mL, a gordura possui densidade abaixo desse valor e a densidade dos sólidos não gordurosos apresenta valor superior, a densidade final do leite depende do balanço desses componentes. A densidade sofre influência direta da diminuição dos sólidos totais do leite, apresentando uma sutil diminuição do seu valor (FONSECA & SANTOS, 2000; TRONCO, 2003). A densidade do leite ainda sofre efeito do estágio da lactação, pois está inversamente relacionada com o teor de gordura, apresentando diminuição do valor médio durante a lactação, coincidindo com o aumento do teor de gordura durante o mesmo período (BRITO, 2004). Assenat (1991) relatou que a densidade média do leite de ovelha varia entre 1.036g/mL e 1.037g/mL. Avaliando a influência da mastite subclínica sobre a densidade do leite de cabra, Lima Júnior (1991) observou que não houve diferença significativa entre as médias da densidade do leite de animais sadios ou infectados.

Como consequência da lesão no tecido mamário, temos a redução de lactose em aproximadamente 10%, ocasionada pela destruição de tecido secretor (KORHONEN & KAARTINEN, 1995; PRADA e SILVA et al., 2000). O nível da lactose no leite é pouco influenciado por fatores nutricionais, exceto nos animais subnutridos, porém o seu nível está diretamente relacionado com a produção de leite (BRITO, 2004). O teor de lactose sofreu decréscimo ao longo da lactação, oscilando de 50g/Kg no início a 42g/Kg no final da lactação em ovelhas leiteiras Lacaune (ASSENAT, 1991), achado também observado por Bianchi et al. (2004), onde este componente diminuiu durante a lactação de ovelhas e também pela presença de infecção na glândula mamária.

Sabe-se que no leite de animais com mastite há um aumento das proteínas oriundas do sangue, possivelmente devido à alteração da integridade do epitélio mamário, pela ação de toxinas bacterianas e aumento da permeabilidade vascular (PAAPE et al., 1995). A composição protéica total do leite de ovelha reúne várias proteínas específicas, dentre as

proteínas do leite, a mais importante é a caseína, que perfaz cerca de 85% das proteínas lácteas, e particularmente no leite de ovelhas Lacaune, os valores médios de proteína vão desde 4,87% no início até 6% no final da lactação (ASSENAT, 1991). A porcentagem média de proteína do leite é de 4,46%, e ainda apresenta avanço progressivo ao longo da lactação (4,23% no início, chegando ao valor de 5,04% no final da lactação) (BRITO, 2004).

Conforme Assenat (1991), a acidez do leite de ovelha em graus Dornic ( $^{\circ}\text{D}$ ), situa-se entre  $18^{\circ}\text{D}$  e  $22^{\circ}\text{D}$ . Lima Júnior (1991) estabelecendo os efeitos da mastite subclínica sobre as características físico-químicas do leite, relatou que esta enfermidade em cabras ocasiona na diminuição dos valores de acidez do leite.

Durante o processo inflamatório, diversas mudanças ocorrem no tecido mamário, desencadeando alteração na permeabilidade capilar e permitindo que íons bicarbonato passem para a secreção láctea, alcalinizando a secreção de glândulas mamárias com mastite, sendo que as variações do pH serão proporcionais aos danos sofridos pelas estruturas celulares e vasculares do tecido mamário (SCHALM et al., 1971).

Em estudo experimental induzindo mastite clínica com *Staphylococcus aureus* em ovelhas, Santos et al. (2007) evidenciaram o comprometimento da produção e as alterações significativas das características físico-químicas do leite, caracterizadas por redução da acidez Dornic e do teor de gordura e a elevação do pH e do teor de cloretos. Lima Júnior (1991) estudando os efeitos da mastite subclínica em cabras, sobre as características físico-químicas, verificou diferença entre metades mamárias sadias e infectadas nos valores de pH, sendo bastante sensível como indicador de mastite em cabras.

No leite de vacas, a condutividade elétrica (CE) foi introduzida como um indicador de mastite durante a última década (HAMANN & ZECCONI, 1998), sendo determinada pela concentração de íons, particularmente o sódio, o potássio e o cloreto. Na mastite, a concentração de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  no leite aumenta, em decorrência do aumento na permeabilidade dos capilares sanguíneos e da destruição dos sistemas de bombeamento iônico, elevando consequentemente a CE do leite na glândula infectada (NIELEN et al., 1992; TANGORRA et al., 2010).

Os valores de condutividade elétrica do leite das glândulas sadias podem apresentar alta variabilidade devido à influências do estágio da lactação, da raça, do intervalo de ordenhas ou fatores relacionados com o estado geral do animal (por exemplo estro) (HAMANN & ZECCONI, 1998). Nas ovelhas, o emprego desta variável como indicador do processo inflamatório ainda não está bem esclarecido, necessitando de mais estudos, conforme observações feitas por Fávero (2010) em rebanho de ovelhas leiteiras ao testar um

equipamento para medir a condutividade elétrica e, por Barth et al. (2008) em estudo com ovelhas criadas em sistema orgânico, onde observaram valores médios de 5,0mS/cm, com variação entre 3,7 mS/cm e 8,6mS/cm.

Segundo Wegner & Stull (1978), a pesquisa do teor de cloretos no leite constitui-se em um método rápido e sensível para o diagnóstico da mastite subclínica, pois o íon cloreto presente na circulação sanguínea, durante os processos inflamatórios, atravessa os capilares e direciona-se ao lúmen dos alvéolos da glândula mamária, devido ao aumento da permeabilidade vascular, destruição das junções celulares e do sistema de bomba ativa. A passagem de íons cloretos ( $CL^-$ ) para o leite de glândulas infectadas, ocorre como mecanismo de compensação para restabelecer o equilíbrio osmótico do leite em relação ao sangue, uma vez que a lactose, que desempenha papel importante neste equilíbrio, encontra-se diminuída nos processos inflamatórios (em torno de 10%), elevando assim o teor de cloretos do leite (FONSECA & SANTOS, 2000). O valor médio do teor de cloretos observados nas amostras de leite não reagentes ao CMT foi de 73,95 mEq/L, enquanto que numa reação de CMT 3+ o valor médio encontrado foi de 105,12 mEq/L (ALMEIDA, 2008).

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBENZIO, M.; TAIBI, L.; MUSCIO, A.; SEVI, A. Prevalence and eiology of suclinical mastitis in intensively managed flock and related changes in the yield and quality of ewe milk. **Small Ruminant Research**, v. 43, n. 3, p. 219-226, 2002.

ALENCAR, L.; ROSA, F. R. T. **Ovinos: panorama e mercado**. Revista O Berro. 96 ed. nov.2006. Disponível em: < [http://www.zebus.com.br/berro/noticias\\_ver.php?CdNotici=9](http://www.zebus.com.br/berro/noticias_ver.php?CdNotici=9) >. Acesso em: 25 out. 2010.

ALMEIDA, M. Z. P. R. B. **Estudo da Mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês e sua influência sobre as características físico-químicas do leite**. 2008. 104f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

ANDERSON, D. E.; HULL, B. L.; PUGH, D. G. Enfermidades da glândula mamária. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo:Roca, p. 379-399, 2005.

ARIZNABARRETA, A.; GONZALO, C.; SAN PRIMITIVO, F. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1370-1375, 2002.

ARSENAULT, J.; DUBREUIL, P.; HIGGINS, R.; BÉLANGER, D. Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meatproducing sheep flocks in Quebec, Canada. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 87, n. ¾, p. 37-393, 2008.

ASSENAT, L. Composición y propiedades. In: LUQUET, F. M. **Leche y productos lácteos: vaca – oveja – cabra**. Zaragoza:Acribia, cap. 1, p. 277-313, 1991.

AZEVEDO, F. M. V. M. C.; ANTONIALLI, L. M. **Produção e Comercialização de carne de ovinos na Região Metropolitana de Belo Horizonte-MG**. Jul/2008. Disponível em: < <http://www.sober.org.br/palestra/9/198.pdf> > Acesso em: 30 nov. 2009.

BARTH, K.; BUROW, E.; KNAPPSTEIN, K. EC and CMT detect subclinical mastitis in dairy sheep but less sensitive than in dairy cows. **vTI Agriculture and Forestry Research**, v. 58, n. ½, p. 65-69, 2008.

BATAVANI, R. A.; MORTAZ, E.; FALAHIAN, K.; DAWOODI, M. A. Study on frequency, etiology and some enzymatic actives of subclinical ovine mastitis in Urmia, Iran. **Small Ruminant Research**, v. 50, n. 1-2, p. 45-50, 2003.

BENCINI, R.; PULINA, G. The quality of sheep milk: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 37, n. 4, p. 485-504, 1997.

BERGONIER, D.; BERTHELOT, X. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. **Livestock Production Science**, v. 79, p. 1-16, 2003.

BERGONIER, D.; CRÉMOUX, R.; RUPP, R.; LAGRIFFOUL, G.; BERTHELOT, X. Mastitis of dairy small ruminants. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 689-716, 2003.

BERRIATUA, E.; ZILUAGA, I.; VIRTO, M.; URIBARREN, P.; JUSTE, R.; LAEVENS, S.; VANDAMME, P.; GOVAN, J.R.W. Outbreak of subclinical mastitis in a flock of dairy sheep associated with *Burkholderia cepacia* complex infection. **Journal Clinical of Microbiology**, v.39, n.3, p.990-994, 2001.

BERTHELOT, X.; LAGRIFFOUL, G.; CONCORDET, D.; BARRILET, F.; BERGONIER, D. Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewe milk. **Small Ruminant Research**, v. 62, n. 1-2, p. 27-31, 2006.

BIANCHI, L.; CASOLI, C.; PAUSELLI, M.; BUDELLI, E.; CAROLI, A.; BOLLA, A.; DURANTI, E. Effect of somatic cell count and lactation stage on sheep milk quality. **Italian Journal of Animal Science**, v. 3, n. 2, p. 147-156, 2004.

BRITO, M. A. **Variação dos perfis metabólico, hematológico e lácteo em ovinos leiteiros na Serra Gaúcha**. 2004. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S.; BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do *California Mastitis Test* como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 49-53, 1997.

BURRIEL, A. R. Isolation of coagulase-negative staphylococci from the milk and environment of sheep. **Journal of Dairy Research**, v. 65, n. 1, p. 139-142, 1998.

CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J.; MARCO, J.; PAAPE, M.; GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 145-153, 2007.

COSTA, N. A.; MENDONÇA, C. L.; AFONSO, J. A. B.; SOUZA, M. I.; CALADO, A. L.; PIRES JR., J. B.; COUTINHO, L. T.; SIMÃO, L. C. V.; CAVALCANTE, A. E. L. Ocorrência de mastite em ovelhas atendidas na Clínica de Bovinos, UFRPE, Campus Garanhuns. **Anais do XXVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, Salvador, 2001, p. 123.

COUTINHO, D. A.; COSTA, J. N.; RIBEIRO, M. G.; TORRES, J. A. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, n. 2, p. 139-151, 2006.

DAS, M.; SINGH, M. Variation in blood leucocytes, somatic cell count, yield and composition of milk of crossbred goats. **Small Ruminant Research**, v. 35, n. 2, p. 169-174, 2000.

DELLA LIBERA, A. M. M. P.; ARAUJO, W. P.; COSTA, E. O.; GARCIA, M.; TÁVORA, J. F. P.; BENATTI, L. A. T. Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas sem alterações ao exame físico da glândula mamária e com alta contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 1, n. 2, p. 42-47, 2001.

DIAS, W. A. F.; ZAFALON, L. F.; MARTINS, K. B.; ESTEVES, S. N.; VERISSIMO, C. J. A mastite em ovinos de corte afeta os ganhos de peso dos cordeiros? **Anais da I Jornada Científica – Embrapa São Carlos**, São Carlos, p. 42, 2009.

DOMINGUES, P. F.; LEITE, C. A. Mastite em Ovinos. **Revista O Berro**, v. 74, p. 50-60, 2003.

DOMINGUES, P. F.; LUCHEIS, S. B.; SERRÃO, L. S.; FERNANDES, S.; CONTENTE, A. P. A.; MARTINS, E. C. V.; LANGONI, H. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. **Ars Veterinaria**, v. 22, n. 2, p. 146-152, 2006.

DRESCHER, G.; MATTIELLO, S. P.; PEIXOTO, R. M.; VARGAS, A. C.; MACIEL, M. N.; COSTA, M. M. Caracterização bioquímica e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de agentes bacterianos isolados de mastite subclínica ovina na região oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 188-193, 2010.

DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S.; MORO, D. V. Determinação laboratorial dos componentes. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. (Eds.). **Uso do leite para monitorar a nutrição de vacas leiteiras**. Porto Alegre: [s.n.], 2001. p. 23-29.

EBRAHIMI, A.; LOTFALIAN, S.; KARIMI, S. Drug resistance in isolated bacteria from Milk of sheep and goats with subclinical mastitis in Shahrekord district. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 8, n. 1, p. 76-79, 2007.

ELIAS, A. O.; VICTORIA, C.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Características físico-químicas e contagens de células somáticas de leite proveniente de vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus* spp. **Arquivo Ciência Veterinária Zoologia**, v. 8, n. 2, p. 165-170, 2005.

FÁVERO, C. S. Registro diário e automatizado da condutividade elétrica do leite de úbere para a detecção de mastite em ovelhas. **Revista CFMV**, v. 16, n. 49, p. 35-42, 2010.

FIGUEIRÓ, P. R. P. Manejo alimentar do rebanho ovino. In: I Simpósio Paulista de Ovinocultura, **Anais...** Fundação Cargil, Campinas, SBZ, p. 22-33, 1990.

FONSECA, F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo:Lemos Editorial, 2000, 175p.

FTHENAKIS, G. C. Somatic cell counts in milk of Welsh-Mountain, Dorset-Horn and Chios ewes throughout lactation. **Small Ruminant Research**, v. 20, n. 2, p. 155-162, 1996.

FTHENAKIS, G. C. Susceptibility to antibiotics of staphylococcal isolates from cases of ovine or bovine mastitis in Greece. **Small Ruminant Research**, v. 28, n. 1, p. 9-13, 1998.

FTHENAKIS, G. C.; JONES, J. E. The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. **British Veterinary Journal**, v. 143, n. 1, p. 43-49, 1990a.

FTHENAKIS, G. C.; JONES, J. E. The effect of inoculation of coagulase-negative staphylococci into the ovine mammary gland. **Journal of Comparative Pathology**, v. 102, n. 2, p. 211-219, 1990b.

GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. C.; GONZALO, C.; SAN PRIMITIVO, F.; CARMENES, P. Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 12, p. 2753-2759, 1995.

GONZALO, C.; CARRIEDO, J. A.; BARO, J. A.; SAN PRIMITIVO, F. Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat, and protein in dairy sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 6, p. 1537-1542, 1994.

GONZALO, C.; ARIZNABARRETA, A.; CARRIEDO, J.A.; SAN PRIMITIVO, F. Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 6, p. 1460–1467, 2002.

GREEN, T. J. Use of somatic cell counts for detection of subclinical mastitis in ewes. **Veterinary Record**, v. 114, n. 2, p. 43, 1984.

GRUNET, E. Sistema genital feminino: úbere. In: DIRKSEN, G., GRÜNDER, H. D., STÖBER, M. (Ed.) **Rosenberger Exame Clínico dos Bovinos**, 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990. p. 299-308.

HAMANN, J.; ZECCONI, A. Evaluation of the electrical conductivity of milk as a mastitis indicator. **International Dairy Federation**, n. 334, p. 1-26, 1998.

HARTMAN, M.; BOLSANELLO, R. X.; DOMINGUES, P. F.; LANGONI, H. Dinâmica dos patógenos encontrados na mastite ovina durante a lactação. In: Congresso Brasileiro de Veterinária, 34º, Santos-SP. **Anais...** Santos, p.227, 2007.

HUESTON, W. D.; HARTWING, N. R.; JUDY, J. K. Detection of ovine intramammary infection with the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 188, n. 5, p. 522-524, 1986.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Produção da Pecuária Municipal (PPM) – 2009, vol. 37.** Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2009/default.shtm> > Acesso em: 21 dez. 2010.

KIRK, J. H.; GLENN, J. S. Mastitis in ewes. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 18, n. 5, p. 582-591, 1996.

KIRK, J. H.; GLENN, J. S.; MAAS, J. P. Mastitis in a flock of milking sheep. **Small Ruminant Research**, v. 22, n. 2, p. 187-191, 1996.

KITCHEN, B. J. Review oh the progress of dairy science: Bovine mastitis, milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, v. 48, n. 1, p. 167-188, 1981.

KORHONEN, H.; KAARTINEN, L. Changes in the composition of milk induced by mastitis. In: SANDHOLM, M.; MONHAKEN-BUZALSKI, T.; KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S. **The Bovine Udder and Mastitis**. Helsinki, University of Helsinki, p. 77-82, 1995.

LANGONI, H. Mastite ovina. In: II Seminário Nordeste Rural, **Anais...** Sergipe, 2005.

LANGONI, H.; ARAÚJO, W. N.; SILVA, A. V.; SOUZA, L. C. Tratamento da mastite bovina com amoxicilina e enrofloxacina bem como com a sua associação. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, n. 2, p. 177-180, 2000.

LAS HERAS, A.; DOMÍNGUEZ, L.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in dairy ewes of the Madrid region. **Small Ruminant Research**, v. 32, n. 1, p. 21-29, 1999.

LEITNER, G.; CHAFFER, M.; SHAMAY, A.; SHAPIRO, F.; MERIN, U.; EZRA, E.; SARAN, A.; SILANIKOVE, N. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 1, p. 46-52, 2004.

LIMA JUNIOR, A. D. **Fatores condicionantes da mastite subclínica caprina e os efeitos da doença sobre as características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite**. 1991. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1991.

MADUREIRA, K. M.; GOMES, V.; CASTRO, R. S.; KITAMURA, S. S.; ARAÚJO, W. P. Análise das metodologias diretas e indiretas para a contagem de células somáticas no leite de cabras híidas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 311-316, 2010.

MAISI, P.; JUNTILA, J.; SEPPANEN, J. Detection of subclinical mastitis in ewes. **British Veterinary Journal**, v. 143, n. 5, p. 402-409, 1987.

MARTINS, K. B.; ZAFALON, L. F.; DIAS, W. A. F.; VERISSIMO, C. J.; ESTEVES, S. N. Composição do leite ovino em animais com mastite subclínica infecciosa. **Anais da I Jornada Científica – Embrapa São Carlos**, São Carlos, p. 30, 2009a.

MARTINS, K. B.; ZAFALON, L. F.; DIAS, W. A. F.; VERISSIMO, C. J.; ESTEVES, S. N. Concordância entre o “California Mastitis Test” e a contagem de células somáticas no diagnóstico da mastite subclínica em ovinos. **Anais da I Jornada Científica – Embrapa São Carlos**, São Carlos, p. 32, 2009b.

MAVROGENIS, A. P.; KOUMAS, A.; KAKOYIANNIS, C. K.; TALLOTIS, C. H. Use of somatic cell counts for the detection of subclinical mastitis in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 17, n. 1, p. 79-84, 1995.

McDOUGALL, S.; MURDOUGH, P.; PANKEY, W.; DENANEY, C.; BARLOW, J.; SCRUTON, D. Relationship among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small Ruminant Research**, v. 40, n. 3, p. 245-254, 2001.

McDOUGALL, S.; PANKEY, W.; DELANEY, C.; BARLOW, J.; MURDOUGH, P.A.; SCRUTON, D. Prevalence and incidence of subclinical mastitis in goats and dairy ewes in Vermont, USA. **Small Ruminant Research**, v. 46, n. 2-3, p. 115-121, 2002.

MEDEIROS, A. N. **Caprinocultura de corte no Nordeste brasileiro**. C@pritec Tecnologia em caprinocultura. Disponível em: < <http://www.caprítec.com.br> >. Acesso em: 16 jan. 2002.

MEHRZAD, J.; DOSOGNE, H.; BURVENICH, C. Lactation, mastitis and first line defense mechanism in dairy cows. **Proceeding of the XXII World Buiatrics Congress**, Hannover:Germany, 2002.

MENDONÇA, C. L.; AFONSO, J. A. B.; COSTA, N. A. Mastite em ovelhas. **Veterinária e Zootecnia**, CRMV-PE, n. 1, p. 7, 2005.

MENZIES, P. I. Mastitis of Sheep - overview of recent literature. In: **Proceedings of the 6th Great Lakes Dairy Sheep Symposium**, Canada, p. 60-68, 2000.

MENZIES, P. I.; RAMANOON, S. Z. Mastitis of sheep and goats. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 17, n. 2, p. 333-358, 2001.

NACCARI, F.; MARTINO, D.; GIOFRÈ, F.; PASSANTINO, A.; De MONTIS, P. Therapeutic efficacy of tilmicosin in ovine mammary infections. **Small Ruminant Research**, v. 47, n. 1, p. 1-9, 2003.

NIELEN, M.; DELUYKER, H.; SCHUKKEN, Y. H.; BRAND, A. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers, and meta analysis of mastitis detection performance. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 2, p. 606-614, 1992.

NUNES, G. R.; BLAGITZ, M. G.; FREITAS, C. B.; SOUZA, F. N.; STRICAGNOLO, C. R.; SANCHES, B. G. S.; AZEDO, M. R.; SUCUPIRA, M. C. A.; DELLA LIBERA, A. M. M. P. Influência da mastite na composição do leite de ovinos lactantes. In: Congresso Brasileiro de Veterinária, 34, 2007 Santos. **Anais...** Santos, 2007, p. 262.

OLIVEIRA, V. L. M. **Aspectos do leite e mastite em ovinos da raça Santa Inês em Sergipe**. 2006. 70f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Núcleo de Pesquisa e Pós-Graduação e Estudos em Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, 2006.

OLIVEIRA, L. G. L. **Estudo clínico-epidemiológico e bacteriológico da mastite em ovelhas da raça Santa Inês no agreste meridional do Estado de Pernambuco**. 2007. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

ONNI, T.; SANNA, G.; LARSEN, J.; TOLA, S. Antimicrobial susceptibilities and population structure of *Staphylococcus epidermidis* associated with ovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 148, n. 1, p. 45-50, 2011.

PAAPE, M. J.; CAPUCO, A. V.; GUIDRY, A. J. Morphology, function and adaptation of mammary cells in normal and disease states. **Journal of Animal Science**, v. 73(Supplement 2), p. 1-17, 1995.

PAAPE, M. J.; POUTREL, B.; CONTRERAS, A.; MARCO, J. C.; CAPUCO, A. V. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 84(E. Suppl.), p. E237-E244, 2001.

PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRIÉS, G. A. Mecanismos de defesa da glândula mamária de bovinos. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 3, n. 3, p. 176-190, 2000.

PRADA e SILVA, L. F.; PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRIÉS, G. A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II-lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, vol. 37, n. 4, p. 330-333, 2000.

PRESCOT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. **Journal of Infectious Diseases**, v. 7, p. 632-640, 1910.

PRESTES, D. S.; FILAPPI, A.; CECIM, M. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam - uma revisão. **Revista da FZVA**, v. 9, n. 1, p. 118-132, 2002.

PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 565-578, 2003.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary medicine: A textbook of the diseases of Cattle, Horse, Sheep, Pigs and Goats**. 10ed. Philadelphia:Elsevier Saunders, p. 673-762, 2007.

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; PIRISI, A.; CRÉMOUX, R.; GONZALO, C. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 126-144, 2007.

RODRIGUES, R.; FONSECA, L. M.; SOUZA, M. R. Acidez do leite. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, n. 13, p. 63-72, 1995.

SANDHOLM, M.; PYÖRÄLÄ, S. Coliform mastitis. In: SANDHOLM, M.; MONHAKEN-BUZALSKI, T.; KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S. **The Bovine Udder and Mastitis**. University of Helsinki, Helsinki. p. 149-160, 1995.

SANTIAGO, L. B.; PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; CHAPAVAL, L. **Etiologia, fatores de risco e aspectos clínicos da mastite ovina – Documentos on line 87**. Sobral:Embrapa Caprinos e Ovinos, 2009. 26 p.

SANTOS, R. A.; MENDONÇA, C. L.; AFONSO, J. A. B.; SIMÃO, L. C. V. Aspectos clínicos e características do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 6-12, 2007.

SARATSI, P.; ALEXOPOULOS, C.; TZORA, A.; FTHENAKIS, G. C. The effect of experimentally induced subclinical mastitis on the milk yield of dairy ewes. **Small Ruminant Research**, v. 32, n. 3, p. 205-209, 1999.

SCHALM, O. W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine Mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360p.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, p. 199-204, 1957.

SEARS, P. M.; McCARTHY, K. K. Management and treatment of staphylococcal mastitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 19, n. 1, p. 171-185, 2003.

SILVA, N. Diagnóstico da mastite em animais de importância econômica. In: **Encontro de Pesquisadores em Mastites**, 3., 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: FMVZ, Unesp, SP, 1999, p. 51-55.

SMITH, M. C.; ROGUINSK, M. Mastitis and other disease of the goat's udder. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 171, n. 12, p. 1241-1248, 1977.

SOL, J.; SAMPIMON, O. C.; SNOEP, J. J.; SCHUKKEN, Y. H. Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2803-2808, 1997.

SOUSA, W. H.; LOBO, R. N. B.; MORAIS, R. M. Santa Inês: estado de arte e perspectivas. **Revista O Berro**, v. 82, p. 78-82, 2005.

SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C.; BRITO, M. A. V. P.; SILVA, M. V. G. B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da

mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1015-1020, 2009.

STEFFERT, I. J. Compositional changes in cow's milk associated with health problem. In: Milk Fat Flavour Forum, Palmerston North, New Zealand. **Proceedings...** Palmerston North, New Zealand:New Zealand Dairy Research Institute, 1993. p. 119-125.

TANGORRA, F. M.; ZANINELLI, M.; COSTA, A.; AGAZZI, A.; SAVOINI, G. Milk electrical conductivity and mastitis status in dairy goats: Results from a pilot study. **Small Ruminant Research**, v. 90, n. 1-3, p. 109-113, 2010.

TATARCZUCH, L.; PHILIP, C.; LEE, C. S. Involution of the sheep mammary gland. **Journal of Anatomy**, v. 190, n. 3, p. 405-416, 1997.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 2.ed., Santa Maria:UFSM, 2003, 192p.

VAZ, A. K. Mastite em ovinos. **A Hora Veterinária**, v. 16, n. 93, p.75-78, 1996.

VIANNI, M. C. E. **Etiologia das mastitis subclínicas bubalinas e sua influência sobre as características do leite**. 1997. 162f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, 1997.

VIVAR-QUINTANA, A. M.; DE LA MANO, E. B.; REVILLA, I. Relationship between somatic cell counts and the properties of yoghurt made from ewes' milk. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 3, p. 262-267, 2006.

VOLTOLINI, T. V.; SANTOS, G. T.; ZAMBOM, M. A.; RIBAS, N. P.; MÜLLER, E. E.; DAMASCENO, J. C.; ÍTAVO, L. C. V.; VEIGA, D. R. Influência dos estádios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 961-966, 2001.

WATKINS, G. H.; BURRIEL, A. R.; JONES, J. E. A field investigation of subclinical mastitis in sheep in southern England. **British Veterinary Journal**, v. 147, n. 5, p. 413-420, 1991.

WATSON, D. L.; BUSWELL, J. F. Modern aspects of sheep mastitis. **British Veterinary Journal**, v. 140, n. 6, p. 529-534, 1984.

WEGNER, T. N.; STULL, J. W. Relation between mastitis test score mineral composition of milk, and blood electrolytes profiles in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 12, p. 1755-1759, 1978.

WINTER, A. Mastitis in ewes. **In practice**, v.23, n.3, p.160-163, 2001.

## 5. ARTIGOS CIENTÍFICOS

### 5.1 – Artigo 1

#### INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO INTRAMAMÁRIA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE DE OVELHAS SANTA INÊS ACOMPANHADAS DURANTE A LACTAÇÃO<sup>1</sup>

Eduardo Levi de Sousa Guaraná<sup>2</sup>, Rogério Adriano dos Santos<sup>2</sup>, Anne Grace Silva Siqueira Campos<sup>2</sup>, Natália da Silva e Silva<sup>3</sup>, José Augusto Bastos Afonso<sup>4</sup> e Carla Lopes de Mendonça<sup>4\*</sup>

**ABSTRACT.-** Guaraná E.L.S., Santos R.A., Campos A.G.S.S., Silva N.S., Afonso J.A.B. & Mendonça C.L. 2011. [**Influence of intramammary infection on characteristics physical-chemical of milk of Santa Inês ewe's accompanied during lactation.**] Influência da infecção intramamária sobre as características físico-químicas do leite de ovelhas Santa Inês acompanhadas durante a lactação. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Bom Pastor s/n, Cx. Postal 152, Mundaú, Garanhuns, PE 55292-901, Brazil. E-mail: carlalopes.mendonca@gmail.com

Alterations due to intramammary infections affect not only production but as well the physical-chemical characteristics of ewe's milk, where the main components can be compromising the quality of milk to nutrition for lambs. The aim of this work was to evaluate the influence of intramammary infection over the main physical-chemical characteristics of ewe's milk Santa Inês during all the lactation period. Thirty four ewes Santa Inês primiparous and multiparous were accompanied created in semi-intensive system and submitted to the same sanitary and nutritional management during lactation. The moments of evaluation were 15 days postpartum (dpp), 30 dpp, 60 dpp and 90 dpp (weaning). During all evaluation moments a clinical exam of the mammary gland was performed. Milk samples for bacteriological culture, direct somatic cell count (SCC) and physical-chemical evaluation (fat, protein and lactose contents, density, Dornic acidity, electrical conductivity, pH and chloride content) was obtained by hand milking, always in the morning and processed on the respective moments. Based on bacterial growth, samples were characterized as being from healthy mammary glands (G1) or infected glands (G2). Results were statistically analyzed by variance analysis. We evaluated 272 samples of milk from 68 mammary glands examined (n= 34 ewes) during all the lactation. There was bacterial growth in 58 samples (23,2%), being characterized as coming from infected glands (G2) and 192 (76.8%) of glands that were considered healthy with no growth (G1). All sheep were negative for lentivirus serology. Was observed elevation (P <0,05) in the somatic cell count characterized the inflammatory process, consequently a elevation, although of low intensity on fat content , protein and chlorides and pH and a reduction of lactose, and these changes are more marked in the end of lactation.

INDEX TERMS: Subclinical mastitis, milk sheep, lactation phases, milk composition.

<sup>1</sup> Recebido em

Aceito para publicação em

Parte da dissertação do primeiro autor no Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

<sup>2</sup> Pós-Graduando em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil.

<sup>3</sup> Pós-Graduanda em Saúde Animal na Amazônia, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva, nº 1000, 68740-080, Castanhal - PA, Brasil.

<sup>4</sup> Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, Av. Bom Pastor s/n, Boa Vista, Cx. Postal 152, Garanhuns, PE 55292-901. \*Autor para correspondência: carlalopes.mendonca@gmail.com

**RESUMO.-** As alterações provocadas pela infecção intramamária refletem não somente na produção, como também, nas características físico-químicas do leite de ovelhas, onde os principais componentes podem estar alterados, comprometendo a qualidade nutricional deste para a alimentação dos borregos. Objetivou-se neste estudo, avaliar a influência da infecção intramamária sobre as características físico-químicas do leite de ovelhas Santa Inês durante o período de lactação. Foram acompanhadas 34 ovelhas primíparas e multíparas da raça Santa Inês criadas em sistema semi-intensivo e submetidas ao mesmo manejo higiênico-sanitário e nutricional durante todo o período de lactação, sendo avaliadas aos 15 dias pós-parto (dpp), 30 dpp, 60 dpp e 90 dpp (desmame); em todos os momentos foi realizado o exame clínico da glândula mamária. As amostras de leite para cultivo bacteriológico, contagem direta de células somáticas (CCS) e avaliação físico-química (teor de gordura, proteína, lactose, densidade, acidez Dornic, condutividade elétrica, pH e teor de cloretos) foram colhidas, por ordenha manual, sempre pela manhã e processadas nos respectivos momentos. Baseado no crescimento bacteriano, as amostras foram caracterizadas como provenientes de glândulas mamárias sadias (G1) e glândulas infectadas (G2). Os resultados foram analisados estatisticamente empregando-se análise de variância. Foram avaliadas 272 amostras de leite provenientes das 68 glândulas mamárias examinadas (n= 34 ovelhas) durante toda lactação. Verificou-se crescimento bacteriano em 58 amostras (23,2%), sendo caracterizadas como oriundas de glândulas infectadas (G2) e 192 (76,8%) de glândulas que foram consideradas sadias, sem crescimento (G1). Todas as ovelhas foram negativas na sorologia para lentivírus. Foi observada elevação ( $P < 0,05$ ) na contagem de células somáticas caracterizando o processo inflamatório, com conseqüente elevação, apesar de pequena intensidade no teor de gordura, proteína e cloretos e pH e redução da lactose, sendo estas alterações mais marcantes na fase final de lactação.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Mastite subclínica, leite ovino, fases da lactação, composição láctea.

## INTRODUÇÃO

A ovinocultura tem ampla potencialidade para desenvolvimento no Nordeste do Brasil, dentre as raças oriundas e criadas na região, destaca-se a Santa Inês. De aptidão para corte, apresenta rusticidade, resistência às condições áridas, bom desenvolvimento ponderal e se reproduz o ano todo, representando excelente opção para matrizes em sistemas de produção, que envolvam cruzamento industrial. Por ser originária das raças Bergamácia e Morada Nova apresenta características, que beneficiam a produção de leite, favorecendo o aleitamento e o peso dos cordeiros, no entanto em situações de manejo semi-intensivo e intensivo, em decorrência de uma alimentação mais rica, observa-se maior pré-disposição para a infecção da glândula mamária, pois o leite excedente não é consumido pelo borrego (Oliveira 2006).

A mastite representa uma limitação na criação de ovinos, devido às perdas econômicas que acarreta, uma vez que limita a produção de borregos, devido ao comprometimento funcional da glândula mamária da ovelha, causando sérios prejuízos econômicos aos criadores, principalmente a mastite subclínica que de forma silenciosa ocasiona grandes perdas (Oliveira 2006, Oliveira 2007, Almeida 2008). Algumas formas de mastite têm impacto significativo sobre as ovelhas, outras alteram a produção e os componentes do leite e, algumas influenciam o desenvolvimento dos animais lactentes, acarretando sérias perdas ao criador. Os prejuízos decorrentes dessa enfermidade estão diretamente relacionados, nos casos agudos, à morte de ovelhas no pico da lactação, tendo um efeito deletério no desenvolvimento do lactente, podendo levar a morte do borrego, aliado aos custos adicionais com a utilização de sucedâneos, como também nos casos crônicos o descarte prematuro de animais (Bergonier et al. 2003, Almeida 2008).

A mastite subclínica tem sido considerada a forma mais preocupante, pois se caracteriza pela ausência de sinais clínicos, o que dificulta sua detecção e conseqüente intervenção terapêutica, comprometendo a produção do animal, podendo permanecer silenciosa no rebanho, sem alterações evidentes do úbere e da secreção láctea, porém, com efeitos significativos tanto na produção como na qualidade do leite, comprometendo seus principais componentes, e conseqüentemente a qualidade nutricional para os borregos (Leitner et al. 2003, Almeida 2008). Sendo assim, é responsável pela diminuição do crescimento pré-desmame e por um aumento na mortalidade de borregos (Bergonier et al. 2003), pois acarreta diminuição da capacidade de síntese da glândula que é acompanhada pela

alteração da permeabilidade vascular comprometendo a composição do leite (Burriel 1997). Em um estudo sobre a mastite subclínica induzida experimentalmente com estafilococos coagulase negativo em ovelhas, a contagem de células somáticas aumentou, a produção de leite diminuiu e os cordeiros apresentaram um retardo no crescimento (Fthenakis & Jones 1990).

Muitos fatores, como a fase da lactação, o estado sanitário da glândula mamária, a produção e a variabilidade individual, contribuem para o comprometimento da qualidade do leite de ovelhas (Bergonier et al. 2003). Tendo em vista a importância econômica e social que a ovinocultura representa, o impacto econômico que a mastite acarreta nesta exploração e a escassez de estudos nos quais as ovelhas sejam acompanhadas durante toda a lactação e não apenas informações pontuais, este estudo teve por objetivo avaliar a influência da infecção intramamária sobre as características físico-químicas do leite (qualitativamente e quantitativamente) de ovelhas na lactação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram acompanhadas, em três propriedades localizadas na região de Garanhuns/PE, 34 ovelhas primíparas e múltíparas da raça Santa Inês criadas em sistema semi-intensivo e submetidas ao mesmo manejo higiênico-sanitário e nutricional durante todo o período de lactação, sendo avaliadas aos 15 dias pós-parto (dpp), 30 dpp, 60 dpp e os 90 dpp (período estabelecido da prática de desmame na região). Não foi realizada avaliação físico-química do leite antes dos 15dpp em decorrência da modificação gradativa de colostro em leite. Nos momentos estabelecidos acima foi realizado o exame clínico dos animais, particularmente da glândula mamária (Diffay et al. 2004) e realizada a colheita do leite, pela manhã, por meio de ordenha manual, com separação prévia dos borregos 12h antes do exame da glândula mamária. Foram colhidos em frascos plásticos aproximadamente 80mL de leite de cada metade mamária, para realização da contagem direta de células somáticas (CCS) e análise físico-química. As amostras para o cultivo bacteriológico foram colhidas após higienização prévia do úbere, desprezando-se os primeiros jatos de leite e, em seguida, após criteriosa antisepsia do óstio do teto com álcool a 70%, foram colhidos aproximadamente 3mL de leite em tubos previamente esterilizados. O material foi transportado para o laboratório em caixas isotérmicas, mantidas sob temperatura de refrigeração com gelo reciclável para processamento, de acordo com os tipos de análises a serem efetuadas.

A contagem direta de células somáticas (CCS) foi realizada de acordo com o método Prescott & Breed, modificado pelo *Subcommittee on Screening Tests, National Mastitis Council* (1968) e adaptado por Santos et al. (2007). Para avaliação da densidade relativa do leite a 15°C e da acidez titulável, expressa em graus Dornic (°D) empregou-se as recomendações do Laboratório Nacional de Referência Animal (Lanara 1981). As amostras utilizadas na determinação dos teores de gordura (%), proteína (%) e lactose (%) foram acondicionadas em frascos estéreis padronizados contendo o conservante bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) e encaminhadas em caixas isotérmicas refrigeradas para análise em equipamento Bentley 2000 (Bentley instruments Inc<sup>®</sup>). Na determinação do potencial de hidrogênio (pH) e condutividade elétrica (mS/cm) utilizou-se analisador automatizado de leite (Ekomilk Total<sup>®</sup>). O teor de cloretos (mEq/L) foi mensurado quantitativamente por método colorimétrico empregando kit comercial (Labtest<sup>®</sup>).

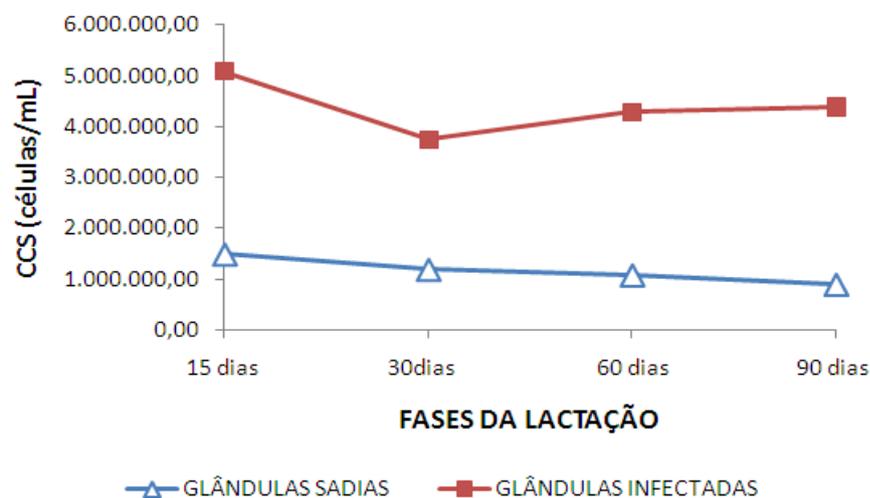
O cultivo bacteriológico foi realizado seguindo as recomendações do National Mastitis Council (1990) em placas de ágar-sangue desfibrinado de carneiro a 5% e ágar McConkey e incubadas a 37°C. As leituras foram realizadas às 24, 48, 72 e 96 horas; sendo observadas as características culturais das colônias (morfologia, produção de pigmento e hemólise) e morfo-tintoriais, por meio do método de coloração de Gram e posterior caracterização bioquímica (Quinn et al. 1994). Baseado no crescimento bacteriano, as amostras foram caracterizadas como provenientes de glândulas mamárias sadias (G1) e glândulas infectadas (G2). Antes do parto e fase final da lactação (90dpp) foi realizada a sorologia para lentivírus, empregando kit para diagnóstico (IDGA) (Biovetech Ltda-ME, Recife, PE).

Os dados da variável CCS foram submetidos ao teste de normalidade segundo Kolmogorov-Smirnov e, como não atendeu a premissa de normalidade, estes foram transformados em log de base 10 (Log10), sendo os dados expressos em média e desvio padrão, porém a estatística é baseada com os dados transformados. Foi empregada a análise de variância e calculada a estatística F e seu respectivo nível de significância (p). No caso da estatística resultar significativa (P<0,05), foi efetuado os contrastes entre médias pelo método de Tukey (Curi 1997).

## RESULTADOS

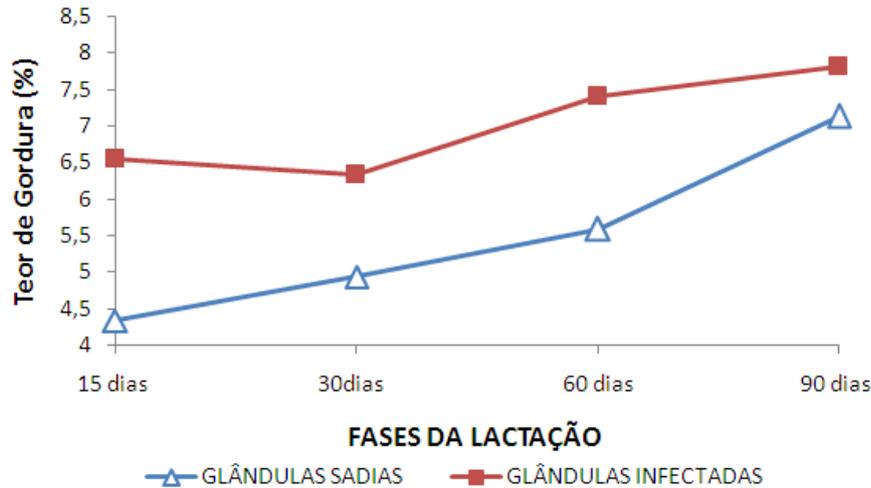
Ao longo de toda a lactação, nos momentos previamente estabelecidos, foram avaliadas 272 amostras de leite provenientes das 68 glândulas mamárias examinadas (n= 34 ovelhas). Destas 272, cinco amostras (1,84%) foram provenientes de glândulas diagnosticadas com a forma clínica da mastite. No decorrer do trabalho duas ovelhas morreram e algumas não apresentaram leite (secas) na fase final de lactação (90 dpp), totalizando 17 amostras. Das 250 amostras restantes analisadas, empregadas neste estudo, verificou-se crescimento bacteriano em 58 (23,2%), sendo caracterizadas como oriundas de glândulas infectadas (G2) e 192 (76,8%) de glândulas sadias (G1). O resultado da sorologia, no diagnóstico de lentivírus, foi negativo em todas as ovelhas estudadas.

**Contagem de células somáticas.** Foi observada diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre os grupos G1 e G2 em todas as fases da lactação, no entanto não foi verificado efeito de momento ( $P > 0,05$ ), caracterizando que não houve influência das fases de lactação sobre a contagem de células somáticas em ambos os grupos (Quadro 1; Fig. 1), que apresentaram valores médios, ao longo da lactação, de 1.160.785,94 células/mL (G1) e 4.372.560,79 células/mL (G2).



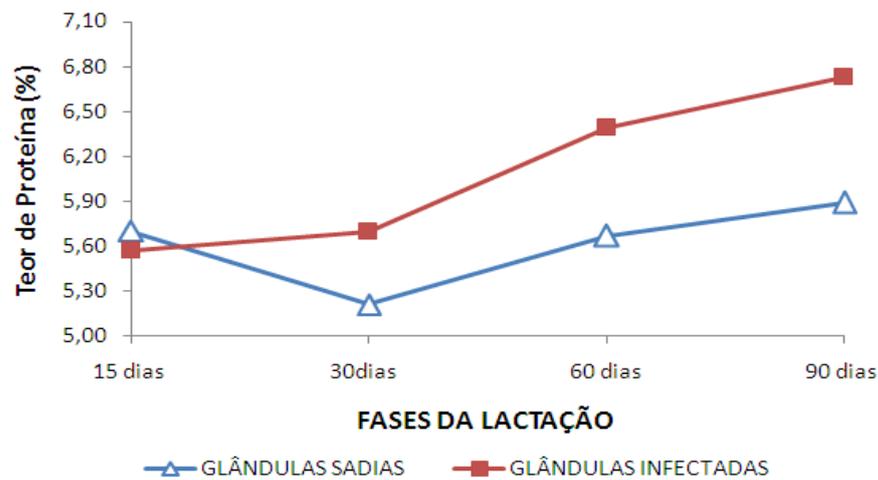
**Fig. 1.** Valores médios da contagem de células somáticas (CCS) (células/mL) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

**Teor de Gordura.** Quando se comparou os resultados entre os dois grupos analisados, observou-se, ao longo de toda a lactação, valores superiores do teor de gordura no grupo infectado (G2), apesar desta elevação ter sido significativa ( $P < 0,05$ ) somente aos 15 dpp e 60 dpp. Apenas no grupo G1, foi verificado efeito de momento ( $P < 0,05$ ) nos valores desta variável no final da lactação (90 dias) quando comparado aos anteriores, demonstrando um gradativo aumento no decorrer da lactação (4,34% no início e 7,14% de gordura no final da lactação (Quadro 1; Fig. 2).



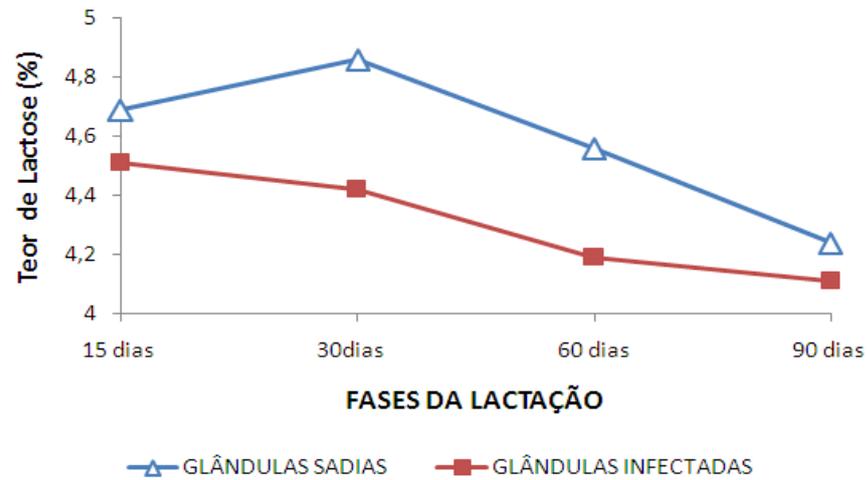
**Fig. 2.** Valores médios do teor de gordura (%) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

**Teor de Proteína.** Quanto ao teor de proteína, verificou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos no 30º dpp, 60º dpp e 90º dpp, estando os valores médios do grupo G2 superiores às glândulas sadias (G1). Quanto ao efeito de momento, no grupo das glândulas sadias (G1), foi observado um decréscimo ( $P < 0,05$ ) nos valores médios desta variável no 30º dia da lactação. Já no G2 (glândulas infectadas) houve diferença ( $P < 0,05$ ) de momento ao comparar os momentos iniciais (15dpp e 30 dpp) com a fase final da lactação (90 dpp), observando-se elevação gradativa nos valores do teor de proteínas (Quadro 1; Fig. 3).



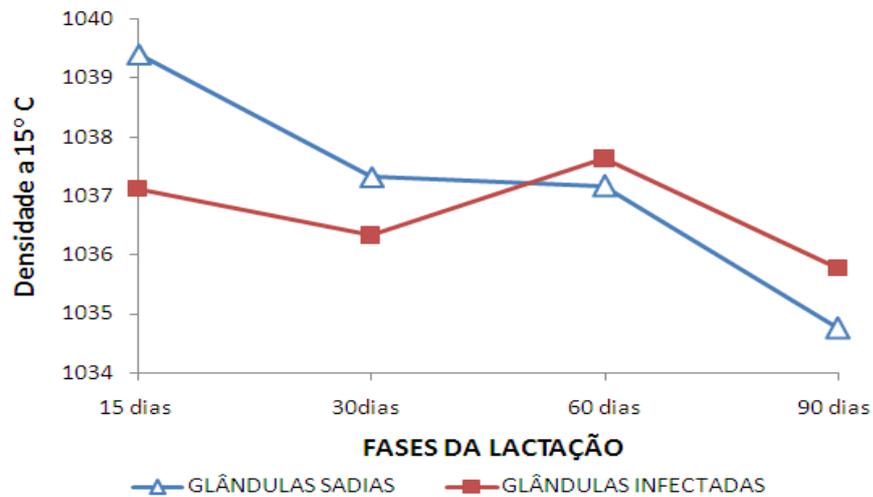
**Fig. 3.** Valores médios do teor de proteína (%) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

**Teor de Lactose.** Ao analisarmos os valores médios do teor de lactose durante as fases da lactação observou-se valores inferiores desta variável em todos os momentos no grupo das glândulas infectadas (G2), quando comparado às glândulas sadias (G1), sendo esta diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) na fase intermediária da lactação (30º dpp e 60º dpp). Foi observado efeito de momento, somente no grupo G1, em que se observou diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) do teor de lactose no final da lactação (Quadro 1; Fig. 4).



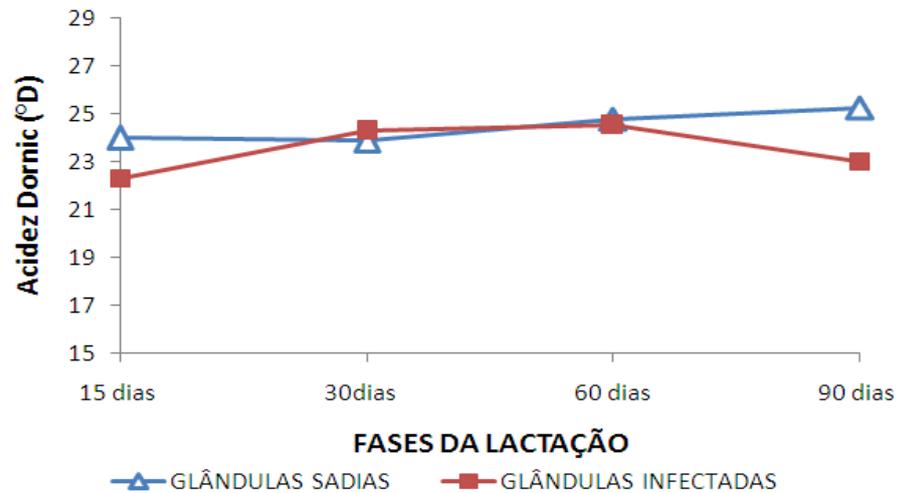
**Fig. 4.** Valores médios do teor de lactose (%) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

**Densidade.** Não foi observada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os grupos no decorrer da lactação, com exceção do momento 15dpp. Com relação ao efeito de momento não foi observado alteração da densidade ao longo da lactação no grupo G2, no entanto nas amostras provenientes de glândulas sadias (G1), houve um decréscimo significativo ( $P < 0,05$ ) desta variável no final da lactação (90 dpp), quando comparado aos momentos anteriores (Quadro 1; Fig. 5).



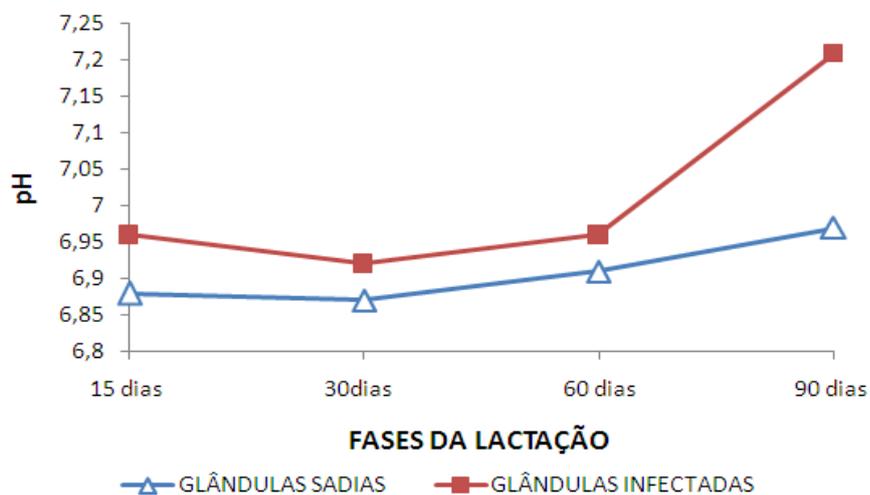
**Fig. 5.** Valores médios da densidade (a 15°C) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

**Acidez Dornic.** Os valores médios referentes à acidez Dornic não revelaram diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) entre os grupos, nem entre os momentos ( $P > 0,05$ ) no decorrer da lactação do G1 e G2 (Quadro 1; Fig. 6), obtendo valores médios de 24,47° e 23,52°D, respectivamente.



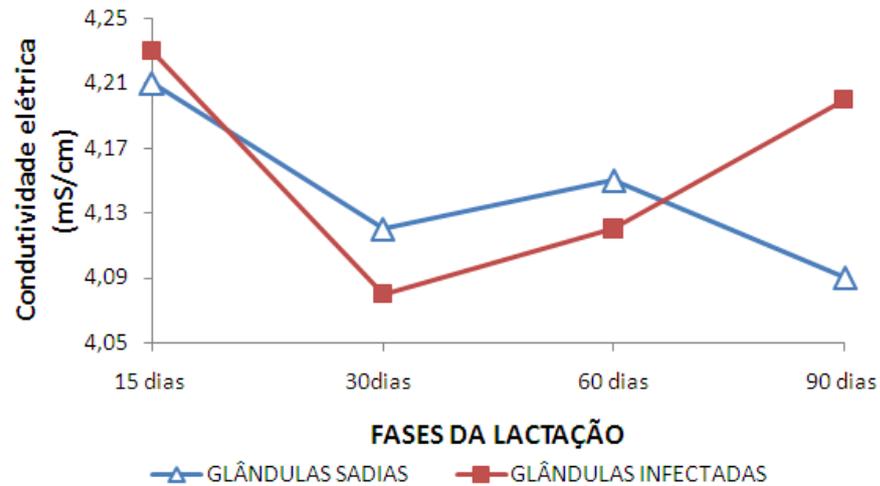
**Fig. 6.** Valores médios da acidez Dornic (°D) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

**pH.** Com relação aos valores médios do pH, foi observado diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre os grupos na fase final da lactação (90dpp), sendo os valores desta variável sempre superiores no grupo das amostras de leite provenientes de glândulas infectadas (G2). O efeito de momento foi observado somente no grupo G2, onde os valores aos 90 dpp se elevaram significativamente ( $P < 0,05$ ), quando comparados aos momentos anteriores (Quadro 1; Fig. 7).



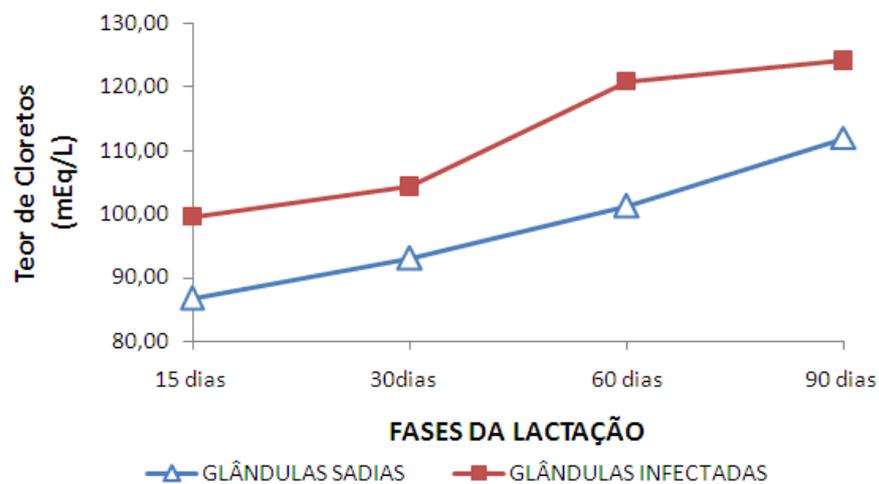
**Fig. 7.** Valores médios do pH do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

**Condutividade elétrica.** Com relação à condutividade elétrica não foi observado diferença significativa entre os grupos G1 e G2 ( $P > 0,05$ ), nem efeito de momento ao longo do período de lactação ( $P > 0,05$ ) (Quadro 1; Fig. 8), obtendo valores médios de 4,14 mS/cm e 4,16 mS/cm, respectivamente.



**Fig. 8.** Valores médios da condutividade elétrica (mS/cm) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

**Teor de cloretos.** Os valores médios do teor de cloretos foram superiores no grupo em que as amostras de leite foram oriundas de glândulas infectadas (G2), sendo esta diferença significativa ( $P < 0,05$ ) no início (15 dpp) e fase intermediária da lactação (60 dpp). Foi verificado efeito de momento ( $P < 0,05$ ) em ambos os grupos, caracterizando um aumento gradativo nos valores médios desta variável ao longo da lactação, que atingiu valores máximos de 111,97 mEq/L e 124,08 mEq/L no estágio final da lactação (90 dpp), nos grupos G1 e G2, respectivamente (Quadro 1; Fig. 9).



**Fig. 9.** Valores médios do teor de cloretos (mEq/L) do leite de glândulas mamárias sadias (G1) e infectadas (G2) de ovelhas da raça Santa Inês durante a lactação.

## DISCUSSÃO

A forma subclínica da mastite, que neste estudo foi identificada através do isolamento bacteriano, foi detectada em 23,2% ( $n=58$ ) das amostras de leite, ao longo da lactação. Este percentual foi também relatado por Bergonier et al. (2003) que verificou ocorrência de 16 a 35% de mastite subclínica em ovelhas, como também por Contreras et al. (2007) cujo índice variou de 5-30% em pequenos ruminantes.

**Contagem de células somáticas.** Os valores médios obtidos para contagem de células somáticas (Fig. 1) no grupo G1 foram pouco superiores (1.160.785,94 células/mL) ao relatado por

Almeida (2008), que considera o valor de  $1 \times 10^6$  células/mL como o limite superior indicativo de glândulas mamárias sadias, no entanto inferiores aos relatados por Mavrogenis et al. (1995), onde a média da CCS do leite de glândulas não-infectadas foi de  $1,57 \times 10^6$  células/mL. Os valores médios durante todo o período de lactação observado no grupo G2 (4.372.560,79 células/mL) foram tão elevados quanto os relatados por Fthenakis (1995) que encontrou valor máximo de  $5,48 \times 10^6$  células/mL e por Almeida (2008) com valor médio de  $8,42 \times 10^6$  células/mL. A infecção intramamária é o mais importante dos fatores que influenciam o aumento da CCS (González-Rodríguez et al. 1995). Este ocorre como consequência da resposta a uma injúria na glândula mamária carregada por mediadores inflamatórios (Harmon 1994). Para Leitner et al. (2003) a elevada CCS indica baixa qualidade do leite, como observado em seu estudo tendo o *Staphylococcus* coagulase-negativo como agente infeccioso. Conforme relatado por Pyörälä (2003), a sensibilidade do método é de fundamental importância na detecção da mastite, sendo a CCS um parâmetro básico para análise do leite. Para Harmon (1994), a magnitude desta contagem está também relacionada ao tipo de agente etiológico envolvido, atribuindo aos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, entre outros, as contagens mais elevadas.

Não foi observado influência do período lactacional sobre o valor da CCS, resultados semelhantes foram relatados em vacas da raça Holandesa (Voltolini et al. 2001), em cabras leiteiras (Das & Singh 2000) e em búfalas (Bastos 2004), cujos autores não encontraram diferenças significativas entre a CCS e o estágio da lactação. No entanto, para Pyörälä (2003), no fim da lactação, a CCS tende a aumentar ligeiramente, devido ao efeito diluição causado pelo declínio natural na produção, acarretando o aumento da concentração celular no leite.

**Teor de Gordura.** Os valores médios de teor de gordura nas glândulas mamárias sadias (G1) foram próximos aos relatados por Brito et al. (2006) no início e final da lactação, de 4,90% a 7,02%, respectivamente. Apesar da presença da infecção intramamária (G2), os resultados encontrados para a porcentagem de gordura estão dentro do intervalo descrito por Assenat (1991) em ovinos Lacaune, que observou valores de 5,97% no começo da lactação progredindo até 8,38% no final. A maior parte das alterações que ocorrem no teor da gordura do leite, como consequência do processo inflamatório são discretas e, em muitos casos não são detectadas até que a infecção se torne grave (Kitchen 1981). A diferença observada entre os grupos estudados, nos quais o G2 apresenta valores superiores desta variável, quando comparado às glândulas sadias (G1), poderia ser justificado pela redução do volume de leite nas glândulas infectadas, como também relatado por outros autores (Kitchen 1981, Leitner et al. 2003). Dentre os constituintes do leite a gordura é caracterizada por Assenat (1991) como o que mais sofre alterações durante a lactação. O aumento gradual do teor de gordura durante a lactação observado no G1 (Fig. 2) também foi demonstrado em outros estudos com leite de glândulas mamárias sadias de ovelhas de diferentes raças (Gonzalo et al. 1994, Ochoa-Cordero et al. 2002), assim como em cabras (Das & Singh 2000) e vacas (Fagan 2006), que atribuíram este aumento à diminuição da produção.

**Teor de Proteína.** A diferença entre os grupos estudados, nos quais se observou valores elevados nas metades infectadas (G2), corrobora com achados de Leitner et al. (2003) e Bianchi et al. (2004a), estando estes resultados relacionados à injúria da barreira alveolar do úbere que permitiu a passagem de proteína do sangue para o leite. De acordo com observações de Leitner et al. (2003) o leite proveniente de um úbere infectado apresenta maior atividade proteolítica, reduzindo a concentração de caseína, que é compensada pelo aumento da concentração de albumina, consequentemente da proteína total do leite.

O efeito significativo de momento durante a lactação foi observado apenas nas glândulas infectadas, apesar de no grupo das glândulas sadias os momentos iniciais apresentarem valores médios menores em relação ao final da lactação, segundo Bencini & Pulina (1997) existe uma correlação negativa entre a produção e a composição do leite, onde, na fase de secagem da glândula, a concentração de proteína se eleva. Esta variação, em função da fase de lactação foi descrita em ovelhas por alguns autores (Assenat 1991, Brito et al. 2006) e em vacas por Fagan (2006). No entanto, Das & Singh (2000) não observaram influência das fases da lactação nos valores da proteína em leite de glândulas sadias de cabras, conforme observado neste estudo.

**Teor de Lactose.** A diferença observada no teor de lactose entre glândulas saudáveis (G1) e infectadas (G2) corrobora com achados de Leitner et al. (2003) e Bianchi et al. (2004b) trabalhando com ovelhas e Pyörälä (2003) com vacas, sugerindo que a capacidade da biosíntese da lactose esteja

comprometida devido ao estado de saúde da glândula mamária. A diminuição da concentração de lactose no leite de metades infectadas por *Staphylococcus* coagulase-negativo foi relatada também por Burriel (1997), que atribuiu a baixa qualidade da matéria prima à diminuição da síntese deste componente do leite em glândulas mamárias infectadas.

Não foi observado efeito do período de lactação nos valores da lactose no leite de ovelhas com mastite subclínica, apenas no leite de glândulas sadias, onde houve um decréscimo no teor de lactose durante a lactação, comportamento semelhante ao relatados em ovelhas sadias por Assenat (1991), Ochoa-Cordero et al. (2002) e Brito et al. (2006), que atribuíram este comportamento do teor de lactose estar diretamente relacionado com a produção de leite.

**Densidade.** Esta variável apresentou diferença entre os grupos apenas no primeiro momento após o parto (15 dpp). Esta similaridade entre grupos ao longo da lactação corrobora os resultados obtidos por Almeida (2008) que não verificou alterações entre glândulas sadias e infectadas por bactérias Gram positivas em ovelhas da raça Santa Inês, bem como, resultados semelhantes foram citados por Lima Júnior (1991) ao avaliar a densidade de leite caprino e por Nicolau et al. (1996) e Zafalon et al. (2005) em estudo da mastite subclínica com vacas de leite, cuja variável parece sofrer pouca influência quando se trata deste tipo de mastite.

A lactação exerceu efeito no grupo das metades sadias, acarretando diminuição gradativa da densidade até o momento de secagem, estando esse comportamento ligado especificamente aos resultados do teor de gordura no mesmo grupo citado. O intervalo dos valores obtidos para a variável de densidade se encontra similar aos relatados por Assenat (1991) e Brito et al. (2006) que atribuíram esta variação ao fato do valor da densidade ser inversamente proporcional ao teor de gordura, relatando menor percentual de gordura no leite na fase inicial da lactação, acontecendo o inverso no final, onde o leite é mais rico em gordura.

**Acidez Dornic.** Não ocorreu diferença entre grupos estudados, resultados semelhantes em vacas foram observados por Nicolau et al. (1996) trabalhando com leite de glândulas infectadas (*Staphylococcus* spp.) e não infectadas e por Elias et al. (2005) com vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus* spp. Diferentemente, Almeida (2008) encontrou diminuição significativa nos animais infectados por diferentes agentes bacterianos, sugerindo que as alterações ocorrem como consequência da elevação de cloreto e sódio no leite, oriundos do sangue, pela alteração de permeabilidade capilar existente no processo inflamatório (Afonso & Vianni 1995).

Os valores médios da acidez Dornic, ao longo da lactação não sofreu diferença entre os grupos. Em estudo realizado por Fagan (2006) com vacas leiteiras, foi observado que as estações do ano e fases de lactação não alteram a acidez do leite ficando evidente que, a acidificação do leite está associada à contaminação primária por microrganismos e às condições de armazenamento. Brito et al. (2006) não observaram diferença desta variável até os 60 dias de lactação de ovelhas Lacaune sadias, porém aos 140 dias houve uma aumento que segundo o autor poderia estar relacionado com o aumento do teor de proteína, fato este não observado neste estudo.

**pH.** Apesar de não significativo, com exceção do final da lactação, os valores superiores do pH do leite proveniente de glândulas infectadas é justificado pela alteração na permeabilidade capilar, acarretada pela reação inflamatória. Como consequência, ocorre passagem de íons como o cloreto de sódio e o bicarbonato de sódio que favorecem à alcalinidade do leite (Santos et al. 2007).

A influência do período de lactação sobre os valores de pH foi observada somente no grupo das glândulas infectadas nos 90 dpp, onde verificou-se elevação desta variável, provavelmente como consequência do processo inflamatório. Em estudo com leite de vacas sadias da raça Holandesa foi observado aumento gradual dos valores do pH durante a lactação (Estrella 2001). Essa variabilidade nos valores de pH ao longo da lactação ainda não está bem esclarecida, conforme também observado por Assenat (1991) e por Brito et al. (2006), que relataram diminuição nos valores de pH do leite aos 30 dias de lactação, recomendando novos estudos para justificar este significado.

**Condutividade elétrica.** Os resultados obtidos neste estudo não caracterizaram esta variável como boa indicadora de infecção da glândula mamária em casos subclínicos de mastite, conforme também observado por Fávero (2010) em rebanho de ovelhas leiteiras ao testar um equipamento para medir a condutividade elétrica. O emprego desta variável em vacas e cabras, como indicadora de infecção da glândula, é estudado e recomendado há alguns anos conforme relatado por Fernando et al. (1985), Zafalon et al. (2005) e Tangorra et al. (2010), tendo como princípio as alterações na carga iônica do leite em decorrência do comprometimento da síntese e/ou da permeabilidade vascular

resultante do processo inflamatório, aumentando a transferência de certos íons, como o bicarbonato de sódio e o cloreto de sódio para o leite. Em ovelhas ainda não está bem estabelecido o emprego desta variável sendo ainda divergente a sua indicação (Barth et al. 2008), necessitando de mais estudos.

Os valores encontrados situam-se no intervalo relatado por Peris et al. (1991) para valores no período de colostro e secagem, de 4,33 e 3,83 mS/cm, respectivamente. Barth et al. (2008) em estudo com ovelhas criadas em sistema orgânico, a média encontrada foi de 5,0 mS/cm, com variação entre 3,7-8,6 mS/cm. Das & Singh (2000) verificaram elevação nos valores desta variável no leite de cabras ao longo da lactação, particularmente no final, atribuindo esta alteração à elevação nos teores de sódio e cloro.

**Teor de cloretos.** Os valores superiores do teor de cloretos nos casos subclínicos de mastite, quando comparados às glândulas sadias ocorre como mecanismo de compensação no restabelecimento do equilíbrio osmótico do leite em relação ao sangue, fazendo com que os íons cloreto e os íons sódio presentes na circulação sanguínea, atravessem os capilares sanguíneos durante o processo inflamatório, direcionando-se ao lúmen dos alvéolos da glândula mamária, como consequência do aumento na permeabilidade vascular, da destruição das junções celulares e do sistema de bombeamento iônico acarretado pela infecção (Afonso & Vianni 1995, Elias et al. 2005). Resultados semelhantes foi relatado por Almeida (2008), que evidenciou a influência da infecção intramamária sobre os valores mais elevados do teor de cloretos das amostras de leite microbiologicamente positivas quando comparadas às negativas.

O aumento gradativo nos valores médios desta variável, que atingiu valores máximos de 111,97 mEq/L e 124,08 mEq/L na fase final da lactação (90 dpp), nos grupos das glândulas sadias e infectadas, respectivamente, caracteriza a influência da lactação sobre o teor de cloretos, conforme também descrito por Estrella (2001) e Zafalon et al. (2005) em vacas, Tonin & Nader Filho (2002) em cabras, e Bastos (2004) em búfalas. De acordo com Vasconcelos et al. (1997), tais achados podem ser atribuídos às alterações fisiológicas descamativas das células secretoras da glândula mamária, as quais ocorrem, principalmente, no final da lactação. Podendo haver desenvolvimento de processo inflamatório que propicia aumento da permeabilidade capilar acompanhado de diminuição da capacidade secretora, dessa forma os íons cloretos podem passar para o leite mantendo o equilíbrio eletrolítico (Tonin & Nader Filho 2002).

Os resultados obtidos neste estudo permitiram concluir que a infecção intramamária acarreta elevação na contagem de células somáticas caracterizando o processo inflamatório, com conseqüente elevação, apesar de pequena intensidade no teor de gordura, proteína e cloretos e pH e redução da lactose, sendo estas alterações mais marcantes na fase final de lactação.

**Agradecimentos.-** Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (MCT/CNPq – Edital Universal-15/2007), pelo apoio financeiro, à equipe do Laboratório do Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (PROGENE/UFRPE) pela análise físico-química do leite e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da Bolsa de Mestrado (Edital PBPG-13/2008).

## REFERÊNCIAS

- Afonso J.A.B. & Vianni M.C.E. 1995. Variação do teor de cloretos e acidez Dornic no leite de vacas com mastite induzida experimentalmente. *Revista Universidade Rural:Série Ciências da Vida* 17(1):1-6.
- Almeida M.Z.P.R.B. 2008. Estudo da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês e sua influência sobre as características físico-químicas do leite. Tese de Doutorado em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. 104p.
- Assenat L. 1991. Composición y propiedades, p.277-313. In: Luquet F.M. (Ed.), *Leche y productos lácteos: vaca-oveja-cabra*. Acribia, Zaragoza.
- Barth K., Burow E. & Knapstein K. 2008. EC and CMT detect subclinical mastitis in dairy sheep but less sensitive than in dairy cows. *vTI Agriculture and Forestry Research* 58(1/2):65-69.

- Bastos P.A.S. 2004. Constituição físico-química, celular e microbiológica do leite de búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas no Estado de São Paulo. Tese de Doutorado em Clínica Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 128p.
- Bencini R. & Pulina G. 1997. The quality of sheep milk: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 37(4):485-504.
- Bergonier D., Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G. & Berthelot X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research* 34(5):689-716.
- Bianchi L., Bolla A., Budelli E., Caroli A., Casoli C., Pauselli M. & Duranti E. 2004a. Effect of udder health status and lactation phase on the characteristics of Sardinian ewe milk. *J. Dairy Sci.* 87:2401-2408.
- Bianchi L., Casoli C., Pauselli M., Budelli E., Caroli A., Bolla A. & Duranti E. 2004b. Effect of somatic cell count and lactation stage on sheep milk quality. *Ital. J. Anim. Sci.* 3:147-156.
- Brito M.A., González F.D., Ribeiro L.A., Campos R., Lacerda L., Barbosa P.R. & Bergmann G. 2006. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. *Ciência Rural* 36(3):942-948.
- Burriel A.R. 1997. Dynamics of intra-mammary infection in sheep caused by coagulase-negative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. *Vet. Rec.* 140:419-423.
- Contreras A., Sierra D., Sánchez A., Corrales J.C., Marco J.C., Paape M.J. & Gonzalo C. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research* 68(1-2):145-153.
- Curi P.R. 1997. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. Tipomic, Botucatu. 263p.
- Das M. & Singh M. 2000. Variation in blood leucocytes, somatic cell count, yield and composition of milk of crossbred goats. *Small Ruminant Research* 35(2):169-174.
- Diffay B.C., Mckenzie D., Wolf C. & Pugh D.G. 2004. Abordagem e exame de ovinos e caprinos, p.1-19. In: Pugh D. G. (Ed.), *Clínica de Ovinos e Caprinos*, Roca, São Paulo.
- Elias A.O., Victoria C., Silva A.V. & Langoni H. 2005. Características físico-químicas e contagens de células somáticas de leite proveniente de vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus* spp. *Arquivo Ciência Veterinária Zoologia* 8(2):165-170.
- Estrella S.L.G. 2001. Características físico-químicas e celulares do leite de bovinos da raça holandesa, criados no estado de São Paulo: influência da fase da lactação, dos quartos mamários, do número de lactações e do isolamento bacteriano. Dissertação de Mestrado em Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 162p.
- Fagan E.P. 2006. Fatores ambientais e de manejo sobre a composição química, microbiológica e toxicológica do leite produzido em duas granjas produtoras de leite tipo "A" no estado do Paraná. Tese de Doutorado em Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. 116p.
- Fávero C.S. 2010. Registro diário e automatizado da condutividade elétrica do leite de úbere para a detecção de mastite em ovelhas. *Revista CFMV* 16(49):35-42.

- Fernando R.S., Spahr S.L. & Jaster E.H. 1985. Comparison of electrical conductivity of milk with other indirect methods for detection of subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 68:449-456.
- Fthenakis G.C. 1995. California Mastitis Test and Whiteside Test in diagnosis of subclinical mastitis of dairy ewes. *Small Ruminant Research* 16(3):271-276.
- Fthenakis G.C. & Jones J.E.T. 1990. The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. *British Veterinary Journal* 146(1):43-49.
- González-Rodríguez M.C., Gonzalo C., San Primitivo F. & Cármenes P. 1995. Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 78:2753-2759.
- Gonzalo C., Carriedo J.A., Baro J.A. & Primitivo F.S. 1994. Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat and protein in dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 77:1537-1542.
- Harmon R.J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77(7):2103-2112.
- Kitchen B.J. 1981. Review oh the progress of dairy science: Bovine mastitis, milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research* 48(1):167-188.
- Lanara – Laboratório Nacional de Referência Animal. 1981. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II- Métodos físicos e químicos. Ministério da Agricultura, Brasília. 201p.
- Leitner G., Chaffer M., Caraso Y., Ezra E., Kababea D., Winkler M., Glickman A. & Saran A. 2003. Udder infection and milk somatic cell count, NAGase activity and milk composition - fat, protein and lactose- in Israeli-Assaf and Awassi sheep. *Small Ruminant Research* 49(2):157-164.
- Lima Junior A.D. 1991. Fatores condicionantes da mastite subclínica caprina e os efeitos da doença sobre as características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite. Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária, UFRRJ, Rio de Janeiro, RJ. 117p.
- Mavrogenis A.P., Koumas A., Kakoyiannis C.K. & Taliotis C.H. 1995. Use of somatic cell counts for the detection of subclinical mastitis in sheep. *Small Ruminant Research* 17(1):79-84.
- National Mastitis Council. 1990. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection 3ed. NMC, Arlington. 34p.
- Nicolau E.S., Nader Filho A., Amaral L.A. & Rossi Júnior O.D. 1996. Influência da mastite subclínica estafilocócica sobre as características físico químicas e celulares do leite. *Pesq.Vet. Bras.* 16(1):35-38.
- Ochoa-Cordero M.A., Torres-Hernández G., Ochoa-Alfaro A.E., Vega-Roque L. & Mandeville P.B. 2002. Milk yield and composition of Rambouillet ewes under intensive management. *Small Ruminant Research* 43(3):269-274.
- Oliveira V.L.M. 2006. Aspectos do leite e mastite em ovinos da raça Santa Inês em Sergipe. Dissertação de Mestrado em Agroecossistemas, Núcleo de Pesquisa e Pós-Graduação e Estudos em Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE. 70p.

- Oliveira L.G.L. 2007. Estudo clínico-epidemiológico e bacteriológico da mastite em ovelhas da raça Santa Inês no agreste meridional do Estado de Pernambuco. Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. 50p.
- Peris C., Molina P., Fernandez N., Rodriguez M. & Torres, A. 1991. Variation in somatic cell count, California Mastitis Test, and electrical conductivity among various fractions of ewe's milk. *J. Dairy Sci.* 74(5):1553-1560.
- Pyörälä S. 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research* 34(5):565-578.
- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B. & Carter G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby, Philadelphia, 648p.
- Santos R.A., Mendonça C.L., Afonso J.A.B. & Simão L.C.V. 2007. Aspectos clínicos e características do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 27(1):6-12.
- Subcommittee on Screening Tests – National Mastitis Council. 1968. Direct microscopic somatic cell count in milk. *J. Milk Food Techn.* 31:350-54.
- Tangorra F. M., Zaninelli M., Costa A., Agazzi A. & Savoini G. 2010. Milk electrical conductivity and mastitis status in dairy goats: results from a pilot study. *Small Ruminant Research* 90(1-3):109-113.
- Tonin F.B. & Nader Filho A. 2002. Influência do estágio de lactação, hora e número de ordenhas sobre o teor de cloretos no leite caprino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 54(1):64-67.
- Vasconcelos C.G.C., Nader Filho A., Amaral L.A. & Pereira, G. T. 1997. Influência da estação do ano, do estágio da lactação e da hora da ordenha sobre o número de células somáticas do leite bovino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 49(4):483-491.
- Voltolini T.V., Santos G.T., Zambom M.A., Ribas N.P., Müller E.E., Damasceno J.C., Ítavo L.C.V. & Veiga D.R. 2001. Influência dos estádios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. *Acta Scientiarum* 23(4):961-966.
- Zafalon L.F., Nader Filho A., Amaral L.A., Oliveira J.V. & Resende F.D. 2005. Alterações da composição e da produção de leite oriundo de quartos mamários de vacas com e sem mastite subclínica de acordo com o estágio e o número de lactações. *Arq. Inst. Biol.* 72(4):419-426.

**Quadro 1. Valores médios e desvios padrão ( $x \pm s$ ) da contagem direta de células somáticas (CCS) e das características físico-química de amostras de leite (n=250) de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases da lactação.**

VARIÁVEIS	GRUPOS	FASES DA LACTAÇÃO			
		15 DIAS (G1 n=50; G2 n=17)	30 DIAS (G1 n=50; G2 n=17)	60 DIAS (G1 n=53; G2 n=13)	90 DIAS (G1 n=39; G2 n=11)
CCS (células/mL)	<b>G1</b>	1,49x10 <sup>6</sup> ± 2,14x10 <sup>6</sup> Aa*	1,18x10 <sup>6</sup> ± 2,01x10 <sup>6</sup> Aa	1,07x10 <sup>6</sup> ± 1,61x10 <sup>6</sup> Aa	0,88 x10 <sup>6</sup> ± 1,59x10 <sup>6</sup> Aa
	<b>G2</b>	5,08x10 <sup>6</sup> ± 2,29x10 <sup>6</sup> Ba	3,74x10 <sup>6</sup> ± 3,09x10 <sup>6</sup> Ba	4,28x10 <sup>6</sup> ± 3,11x10 <sup>6</sup> Ba	4,37x10 <sup>6</sup> ± 2,77x10 <sup>6</sup> Ba
TEOR DE GORDURA (%)	<b>G1</b>	4,34 ± 1,53Aa	4,94 ± 3,11Aa	5,59 ± 2,01Aa	7,14 ± 2,44Ab
	<b>G2</b>	6,55 ± 3,03Ba	6,34 ± 2,11Aa	7,42 ± 3,08Ba	7,82 ± 2,64Aa
TEOR DE PROTEÍNA (%)	<b>G1</b>	5,70 ± 0,67Aa	5,21 ± 0,73Ab	5,67 ± 0,78Aa	5,89 ± 0,71Aa
	<b>G2</b>	5,57 ± 0,65Aa	5,70 ± 0,74Ba	6,39 ± 0,87Ba	6,73 ± 0,52Bb
TEOR DE LACTOSE (%)	<b>G1</b>	4,69 ± 0,52Aa	4,86 ± 0,37Aa	4,56 ± 0,37Ab	4,24 ± 0,49Ac
	<b>G2</b>	4,51 ± 0,63Aa	4,42 ± 0,53Ba	4,19 ± 0,45Ba	4,11 ± 0,53Aa
DENSIDADE (a 15° C)	<b>G1</b>	1039,41 ± 2,27Aa	1037,32 ± 4,15Ab	1037,17 ± 2,21Ab	1034,76 ± 3,62Ac
	<b>G2</b>	1037,13 ± 4,63Ba	1036,33 ± 3,04Aa	1037,63 ± 2,95Aa	1035,77 ± 5,43Aa
ACIDEZ DORNIC (°D)	<b>G1</b>	23,97 ± 3,46Aa	23,87 ± 2,74Aa	24,78 ± 4,30Aa	25,24 ± 4,45Aa
	<b>G2</b>	22,29 ± 3,89Aa	24,27 ± 4,52Aa	24,50 ± 3,46Aa	23,00 ± 4,38Aa
pH	<b>G1</b>	6,88 ± 0,20Aa	6,87 ± 0,29Aa	6,91 ± 0,24Aa	6,97 ± 0,16Aa
	<b>G2</b>	6,96 ± 0,17Aa	6,92 ± 0,22Aa	6,96 ± 0,16Aa	7,21 ± 0,34Bb
CONDUTIVIDADE ELÉTRICA (mS/cm)	<b>G1</b>	4,21 ± 0,84Aa	4,12 ± 0,39Aa	4,15 ± 0,49Aa	4,09 ± 0,42Aa
	<b>G2</b>	4,23 ± 0,48Aa	4,08 ± 0,43Aa	4,12 ± 0,56Aa	4,20 ± 0,64Aa
TEOR DE CLORETOS (mEq/L)	<b>G1</b>	86,71 ± 19,56Aa	93,02 ± 24,34Aa	101,30 ± 26,16Ab	111,97 ± 21,23Ab
	<b>G2</b>	99,47 ± 24,45Ba	104,28 ± 14,43Aa	120,76 ± 34,74Ba	124,08 ± 18,52Ab

Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos G1 e G2.

Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os momentos de observação.

\* Valores médios com estatística expressa pela transformação em Log10.

## 5.2 – Artigo 2

### DINÂMICA CELULAR E MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE OVELHAS SANTA INÊS ACOMPANHADAS DURANTE A LACTAÇÃO<sup>2</sup>

Eduardo Levi de Sousa Guaraná<sup>2</sup>, Rogério Adriano dos Santos<sup>2</sup>, Anne Grace S. Siqueira Campos<sup>2</sup>, Natália da Silva e Silva<sup>3</sup>, José Augusto Bastos Afonso<sup>4</sup> e Carla Lopes de Mendonça<sup>4\*</sup>

**ABSTRACT.-** Guaraná E.L.S., Santos R.A., Campos A.G.S.S., Silva N.S., Afonso J.A.B. & Mendonça C.L. 2011. [Cellular dynamics and microbiological of milk of Santa Inês ewe's accompanied during lactation.] Dinâmica celular e microbiológica do leite de ovelhas Santa Inês acompanhadas durante a lactação. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Bom Pastor s/n, Cx. Postal 152, Mundaú, Garanhuns, PE 55292-901, Brazil. E-mail: carlalopes.mendonca@gmail.com

The aim of this study was to evaluate the dynamics of intramammary infection in ewes by means of clinical examination, direct somatic cell count and the isolation of bacterial agents involved in the process during lactation, as well as the sensitivity profile of these isolates to different antimicrobial. Thirty four ewes from the Santa Inês breed, raised under semi-intensive handling and submitted to the same sanitary and nutritional management were evaluated before and after parturition: approximately 10 days before parturition, 15 days after parturition (dap), 30 dap, 60 dap and 90 dap (weaning). In the respective moments a clinical exam of the mammary gland was accomplished. The direct somatic cell count (SCC) and the California Mastitis Test (CMT) were carried out in the moments postpartum (15 dap, 30 dap, 60 dap and 90 dap) as well as the bacteriological analysis which was also accomplished in the experimental moment that preceded parturition when the ewes were not milked. Milk sampling was achieved by manual means. All ewes were submitted to lentivirus serology test. Variance analysis was used and in cases where the statistics were significant ( $P < 0,05$ ) a contrast between means was accomplished by Tukey test. Mann-Whitneys non-parametric test was used for independent samples and Friedmans non-parametric test for dependent samples. A descriptive study of the variables studied was done by a frequency distribution (%). Results allowed to conclude that subclinical mastitis represents a great sanitary concern in the raising of Santa Inês ewes, being the phase that precede parturition worth the attention therewith the high percentage of bacterial isolation from mammary glands apparently healthy combined to the observation, in the lactation phase, of the highest percentage of isolates in the first 30 days of lactation namely the beginning of lactation, ie at the initial stage, being negative coagulase *Staphylococcus* the agent isolated in higher percentage. Somatic cell count was elevated in subclinical cases, however it was influenced by the different stages of lactation.

**INDEX TERMS:** *California Mastitis Test*, somatic cell direct count, intramammary infection, *Staphylococcus* spp., sensitivity profile.

---

<sup>2</sup>Recebido em

Aceito para publicação em

Parte da dissertação do primeiro autor no Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

<sup>2</sup> Pós-Graduando em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil.

<sup>3</sup> Pós-Graduanda em Saúde Animal na Amazônia, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva, nº 1000, 68740-080, Castanhal - PA, Brasil.

<sup>4</sup> Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, Av. Bom Pastor s/n, Boa Vista, Cx. Postal 152, Garanhuns, PE 55292-901. \*Autor para correspondência: carlalopes.mendonca@gmail.com

**RESUMO.-** Objetivou-se neste estudo, avaliar a dinâmica da infecção intramamária de ovelhas por meio da avaliação clínica, da contagem direta de células somáticas e do isolamento dos agentes bacterianos envolvidos no processo ao longo de toda a lactação, bem como o perfil de sensibilidade destes isolados frente a diferentes antimicrobianos. Foram acompanhadas 34 ovelhas da raça Santa Inês criadas em sistema semi-intensivo e submetidas ao mesmo manejo higiênico-sanitário e nutricional acompanhadas antes/durante o período de lactação: aproximadamente 10 dias que precedeu ao parto, 15 dias pós-parto (dpp), 30 dpp, 60 dpp e 90 dpp (desmame). Nos respectivos momentos foi realizado o exame clínico da glândula. A contagem direta de células somáticas (CCS) e o CMT foram realizados nos momentos seguintes ao parto (15dpp, 30dpp, 60dpp e 90dpp), assim como a análise bacteriológica, que foi realizada além dos momentos citados, também no momento que precedeu ao parto o qual foi estabelecido por não ordenhar as ovelhas. A colheita do leite foi realizada por meio de ordenha manual. Todas as ovelhas foram submetidas à sorologia para lentivírus. Foi empregada a análise de variância, no caso da estatística resultar significativa ( $p < 0,05$ ), foi efetuado os contrastes entre médias pelo método de Tukey. Foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para amostras independentes e a prova não paramétrica de Friedman para amostras dependentes. Foi realizado um estudo descritivo das variáveis estudadas empregando-se a distribuição de frequências (%). Os resultados obtidos, permitiu-nos concluir que a mastite subclínica representa uma preocupação sanitária na criação de ovelhas Santa Inês, sendo particularmente a fase que precede o parto merecedora de maior atenção tendo em vista o alto percentual de isolamento bacteriano de glândulas aparentemente sadias, aliado à observação, já na fase de lactação, do maior percentual de isolamento ocorrer nos primeiros 30 dias da lactação, ou seja, na fase inicial, sendo *Staphylococcus* coagulase-negativo o agente isolado em maior percentual. A contagem de células somáticas foi caracterizada pelo seu aumento nos casos subclínicos sem entretanto, ser influenciada pelas diferentes fases da lactação.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** *California Mastitis Test*, contagem direta de células somáticas, infecção intramamária, *Staphylococcus* spp., perfil de sensibilidade.

## INTRODUÇÃO

A exploração de ovinos na região Nordeste é uma opção viável e rentável não somente para pequenos e médios produtores, mas também para grandes pecuaristas (Alencar & Rosa 2006). Dentre as raças oriundas e criadas na região, destaca-se a Santa Inês, de aptidão para corte, por sua rusticidade, resistência às condições áridas, bom desenvolvimento ponderal e por se reproduzir o ano todo, representando excelente raça para matrizes em sistemas de produção, que envolvam cruzamento industrial. Por ser originária das raças Bergamácia e Morada Nova apresentam características, que beneficiam a produção de leite, favorecendo o aleitamento e o peso dos cordeiros, no entanto em situações de manejo semi-intensivo e intensivo, em decorrência de uma alimentação mais rica, observa-se maior pré-disposição para a infecção da glândula mamária, pois o leite excedente não é consumido pelo borrego (Oliveira 2006).

Pouco se conhece sobre as particularidades da glândula mamária da ovelha, principalmente as de aptidão para corte. A mastite nas ovelhas tem um grande impacto econômico para o criador se comparado aos efeitos na vaca e na cabra, pois a doença pode levar à redução no ganho de peso dos cordeiros e causar aumento na mortalidade. Os prejuízos decorrentes dessa enfermidade estão diretamente relacionados, nos casos agudos, à morte de ovelhas no pico da lactação, tendo um efeito deletério no desenvolvimento do lactente, podendo levar a morte do borrego, aliado aos custos adicionais com a utilização de sucedâneos, como também nos casos crônicos o descarte prematuro de animais, muitas vezes de alto valor genético (Menzies & Ramanoon 2001, Oliveira 2007). Os casos clínicos de mastite podem ocorrer em qualquer período da lactação ou mesmo no período seco. As situações mais graves ocorrem duas a quatro semanas após o parto e algumas vezes logo após o desmame (Menzies & Ramanoon 2001). Oliveira (2007) observou na região do Agreste Meridional de Pernambuco maior ocorrência da doença logo após o parto. Um período considerado de maior risco é o final da lactação, caracterizado pela involução da glândula mamária, que tem início no momento em

que os borregos são separados de suas mães e tem seu término em aproximadamente 30 dias depois, conforme relatado por Tatarczuch et al. (1997).

A mastite subclínica não é facilmente detectada na ovelha, no entanto compromete a produção do animal (Menzies & Ramanoon 2001). As alterações provocadas no tecido mamário refletem não somente na produção, como também nas características físicas e químicas do leite, onde os principais componentes podem estar alterados, comprometendo a qualidade nutricional deste para a alimentação dos borregos (Almeida 2008). Segundo Watkins et al. (1991), a prevalência da mastite subclínica aumenta com a idade, sendo observada associação significativa entre a forma subclínica e a ocorrência de mastite clínica, causada pelo mesmo agente etiológico. Dentre os agentes causadores da mastite em ovelhas, o *Staphylococcus* spp. é o mais frequentemente diagnosticado. Outros microrganismos também têm sido relatados como causadores de mastite clínica, entre os quais *Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica*, *Corynebacterium bovis*, *Actinomyces pyogenes*, *Histophilus ovis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Menzies & Ramanoon 2001, Oliveira 2007). Como agentes de mastite subclínica destaca-se os *Staphylococcus* coagulase-negativo (SCN), já tendo sido também relatados *S. aureus*, *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., enterobactérias, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas* spp. (McDougall et al. 2001, Menzies & Ramanoon 2001, Coutinho et al. 2006, Almeida 2008).

Muitos fatores, entre os quais a fase da lactação, o estado sanitário da glândula mamária, a produção, a variabilidade individual e a patogenicidade do agente etiológico, contribuem para o comprometimento da qualidade do leite (Bergonier et al. 2003). Nas ovelhas, principalmente com aptidão para corte, os estudos são escassos e oriundos de informações pontuais, conforme também ressaltado por Lafi et al. (1998), resultantes de uma única visita à propriedade, devido à dificuldade do acompanhamento durante a lactação. Com o propósito de melhor compreender a dinâmica da infecção intramamária, caracterizada pela presença do agente etiológico e pelo aumento da celularidade, foi realizado o monitoramento de ovelhas submetidas a um mesmo sistema de criação acompanhadas a partir do período que precedeu ao parto, assim como ao longo de todo o período de lactação.

Este estudo teve por objetivo avaliar a dinâmica da infecção intramamária de ovelhas por meio da avaliação clínica, da contagem direta de células somáticas e do isolamento dos agentes bacterianos envolvidos no processo ao longo de toda a lactação, bem como o perfil de sensibilidade destes isolados frente a diferentes antimicrobianos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram acompanhadas, em três propriedades localizadas na região de Garanhuns/PE, 34 ovelhas primíparas e múltíparas da raça Santa Inês criadas em sistema semi-intensivo e submetidas ao mesmo manejo higiênico-sanitário e nutricional acompanhadas antes/durante o período de lactação, compreendendo os seguintes momentos de avaliação: 10 dias que precedeu ao parto, 15 dias pós-parto (dpp), 30 dpp, 60 dpp e 90 dpp. O exame clínico do animal e especificamente da glândula mamária foi realizado seguindo as recomendações Diffay et al. (2004).

Os resultados do *California Mastitis Test* (CMT) foram classificados em escores: negativo (reação negativa ou traços) e positivo (1+, 2+ e 3+) (Schalm et al. 1971). As análises das variáveis propostas neste estudo foram efetuadas nos momentos seguintes ao parto (15dpp, 30dpp, 60dpp e 90dpp), com exceção da análise bacteriológica, que foi realizada também no momento que precedeu ao parto (10 antes), fase esta de formação do colostro, a qual foi estabelecido por não ordenhar as ovelhas.

A colheita do leite foi realizada logo após a realização do exame clínico, pela manhã, por meio de ordenha manual, com separação prévia dos borregos 12h antes. A contagem direta de células somáticas (CCS) foi realizada de acordo com o método Prescott & Breed, modificado pelo *Subcommittee on Screening Tests, National Mastitis Council* (1968) e adaptado por Santos et al. (2007). As amostras para o cultivo bacteriológico foram colhidas após higienização prévia do úbere, após desprezar os primeiros jatos e criteriosa antisepsia do óstio do teto com álcool a 70%. As amostras (aproximadamente 3mL) foram acondicionadas em tubos previamente esterilizados e transportadas ao laboratório, sob refrigeração em caixa de material isotérmico. O cultivo bacteriológico foi realizado seguindo as recomendações do *National Mastitis Council* (1990) em placas de ágar-sangue desfibrinado de carneiro a 5% e ágar McConkey e incubadas a 37°C. As leituras foram realizadas às

24, 48, 72 e 96 horas; sendo observadas as características culturais das colônias (morfologia, produção de pigmento e hemólise) e morfo-tintoriais, por meio do método de coloração de Gram e posterior caracterização bioquímica (Quinn et al. 1994). Os isolados bacterianos foram mantidos criopreservados (-80°C) em caldo BHI, adicionado de glicerol a 15%.

O teste de susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo método de difusão por discos (Bauer et al. 1966), seguindo as especificações do *Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI/NCCLS* (2005). Foram utilizados discos (Sensibiodisc, Cecon/Sensifar-Vet, Cefar Diagnóstica) impregnados com os seguintes antimicrobianos: Ampicilina (AMP-10 µg), Cefalotina (CEP-30 µg), Cefoxitina (FOX-30 µg), Enrofloxacin (ENR-5 µg), Eritromicina (ERY-15 µg), Estreptomicina (STR-10 µg), Gentamicina (GEN-10 µg), Kanamicina (KAN-30 µg), Neomicina (NEO-30 µg), Oxacilina (OXA-1 µg), Penicilina G (PEN-10 UI), Sulfazotrim (SXT-25 µg) e Tetraciclina (TCY-30 µg). Para o controle na qualidade de execução, cepas padrão (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) foram testadas sob as mesmas condições de meios de cultivo e incubação. No momento que antecedeu ao parto (10 dias antes) foram resgatadas informações referentes às ovelhas estudadas como, número de parições anteriores, número de crias, ocorrência anterior de mastite, número de glândulas acometidas e utilização prévia de antimicrobianos intramamário. Neste mesmo momento que antecedeu ao parto e na fase final da lactação (90dpp) foi realizada a sorologia para lentivírus, empregando kit para diagnóstico (IDGA) (Biovetch Ltda-ME, Recife, PE).

Os dados da variável CCS foram submetidos ao teste de normalidade segundo Kolmogorov-Smirnov e, como não atendeu a premissa de normalidade, estes foram transformados em log de base 10 (Log10). Por conseguinte efetuou-se a análise de variância e contraste de médias pelo teste de Tukey com nível de significância de  $p < 0,05$ . Os dados da CCS foram expressos em média e desvio padrão, porém a estatística é baseada com os dados transformados. Foi realizado um estudo descritivo das variáveis estudadas empregando-se a distribuição de frequências (%) (Curi 1997).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os cinco momentos de observação, antes e ao longo de toda a lactação, foram avaliadas 340 amostras de leite provenientes das 68 glândulas mamárias examinadas (n=34 ovelhas). Destas 340, cinco amostras (1,47%) foram provenientes de glândulas diagnosticadas com mastite clínica. No decorrer do trabalho duas ovelhas morreram por motivos outros que não mastite e outras não apresentaram leite, tinham secado, na fase final de lactação aos 90 dpp, totalizando 17 amostras. O resultado do exame sorológico para o diagnóstico de lentivírus foi negativo em todas as ovelhas estudadas.

Das 318 amostras restantes analisadas, 68 foram provenientes do momento que antecedeu ao parto, correspondente a fase de formação do colostro, empregadas apenas para realização do cultivo bacteriológico, e as outras 250 restantes foram amostras provenientes de glândulas que foram submetidas no exame clínico ao CMT durante todos os momentos estabelecidos na lactação.

Das 250 amostras de leite submetidas ao CMT 163 (65,2%) não reagiram ao teste e 87 (34,8%) foram reagentes, distribuídos ao longo de toda a lactação, conforme pode ser observado no Quadro 1.

**Quadro 1. Percentual de amostras de leite de ovelhas da raça Santa Inês não reagentes e reagentes (1+, 2+, 3+) no CMT em diferentes fases da lactação.**

Reação do CMT	FASES DA LACTAÇÃO				
	15 dpp %(n)	30 dpp %(n)	60 dpp %(n)	90 dpp %(n)	TOTAL %(n)
<b>Não reagente</b>	64,18(43)	65,67(44)	63,64(42)	68,0(34)	65,2(163)
1 +	5,97(04)	16,42(11)	13,63(09)	14,0(07)	12,4(31)
2 +	10,45(07)	5,97(04)	15,15(10)	6,0(03)	9,6(24)
3 +	19,40(13)	11,94(08)	7,58(05)	12,0(06)	12,8(32)
<b>Reagente (1+, 2+, 3+)</b>	35,82(24)	34,33(23)	36,36(24)	32,0(16)	34,8(87)
<b>TOTAL (reagentes e não reagentes)</b>	n=67	n=67	n=66	n=50	n=250

Os resultados obtidos neste estudo foram semelhantes aos verificados por Coutinho et al. (2006), Domingues et al. (2006) e Almeida (2008), que relataram percentuais entre 30% e 36% e inferiores aos relatados por Oliveira (2006) de 41,1%. Por outro lado, Bolsanello et al. (2009) trabalhando com 482 amostras de leite de ovelhas relataram um percentual de 4,36% de amostras reagentes, muito inferior ao observado neste estudo, atribuindo este baixo percentual aos cuidados higiênicos adotados durante à ordenha, não sendo observado neste rebanho nenhum caso clínico.

Considerando todas as 68 glândulas mamárias submetidas ao exame clínico em cada uma das fases da lactação, pôde-se constatar um percentual de ocorrência de mastite subclínica que variou de 23,53% a 35,29%. Observa-se uma equidistribuição destes percentuais nos primeiros dois meses de lactação, com valores inferiores na fase final, aos 90 dias, conforme pode ser observado no Quadro 2. A frequência de ocorrência da mastite subclínica durante todo o período da lactação permaneceu dentro do intervalo relatado em estudos que levam em consideração resultados isolados, independente da fase de lactação, como descritos por Bergonier & Berthelot (2003) que verificaram a ocorrência de 10 a 50% de mastite subclínica em ovelhas e, com valores pouco acima dos relatados por Contreras et al. (2007) cujo índice variou de 5-30% em ovelhas e cabras.

Das ovelhas acompanhadas, 26 (76,47%) eram múltíparas, estando principalmente entre a 2<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> parição, corroborando com achados de Albenzio et al. (2002), que relataram elevação da ocorrência da mastite subclínica com o aumento do número de lactações, sendo mais comum em ovelhas múltíparas que em primíparas. E em 52,94% das ovelhas estudadas observou-se a parição de apenas uma cria, resultado semelhante foi observado por Almeida (2008). De acordo com Menzies & Ramanoon (2001) a predisposição para a ocorrência de mastite deve-se ao fato da sucção incompleta do leite da glândula pelo borrego.

**Quadro 2. Percentual de ocorrência de mastite subclínica nas glândulas mamárias de ovelhas da raça Santa Inês acompanhadas durante as fases da lactação.**

CMT	FASES DA LACTAÇÃO			
	15 dpp n (%)	30 dpp n (%)	60 dpp n (%)	90 dpp n (%)
<b>Reagente (1+, 2+, 3+)</b>	24 (35,29%) n=68	23 (33,82%) n=68	24 (35,29%) n=68	16 (23,53%) n=68

Observou-se durante todas as fases da lactação diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ) nos valores médios da CCS quando comparados os escores do CMT (negativo, 1+, 2+ e 3+), estando estes valores sempre mais elevados quanto maior a intensidade da reação (Quadro 3).

Ao longo de toda a lactação observou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) apenas na CCS do grupo que não reagiu ao CMT, porém não observou-se elevação nas diferentes fases. As amostras de leite com reação 1+, 2+ e 3+, apresentaram durante a lactação valores médios de 2.133.914,19 células/mL, 5.255.667,72 células/mL e 6.730.514,50 células/mL, respectivamente. Estes resultados divergem dos relatados por Fthenakis (1996), Anderson et al. (2005) e Paape et al. (2007), que relataram valores superiores da CCS na fase final da lactação, atribuindo este achado à concentração de células no período de secagem.

**Quadro 3. Valores médios e desvios padrão ( $x \pm s$ ) da contagem de células somáticas (CCS) de acordo com as respectivas reações no CMT do leite de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases da lactação.**

REAÇÃO DO CMT	FASES DA LACTAÇÃO			
	15 dpp	30 dpp	60 dpp	90 dpp
<b>NEGATIVO</b>	620.611,11 $\pm$ 557.704,60 aC*	387.896,08 $\pm$ 409.709,05 bC	594.052,39 $\pm$ 908.019,56 abC	389.970,39 $\pm$ 429.700,12 bC
<b>1+</b>	2.673.397,38 $\pm$ 506.947,98 aB	2.459.213,02 $\pm$ 1.904.199,21 aB	1.643.660,62 $\pm$ 1.024.197,70 aB	1.759.385,75 $\pm$ 570.550,15 aB
<b>2+</b>	5.652.199,98 $\pm$ 2.938.870,47 aAB	5.711.609,10 $\pm$ 2.735.780,20 aA	3.561.173,36 $\pm$ 2.788.922,09 aB	6.097.688,43 $\pm$ 1.936.630,38 aA
<b>3+</b>	6.423.864,93 $\pm$ 1.109.517,49aA	7.000.000,00 $\pm$ 0,0aA**	7.000.000,00 $\pm$ 0,0aA**	6.498.193,00 $\pm$ 1.229.170,89aA

Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos.

Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os momentos de observação.

\*Valores médios com estatística expressa pela transformação em Log10.

\*\*CCS  $> 7,0 \times 10^6$

Nas glândulas sadias, o valor médio da CCS em cada um dos momentos da lactação encontra-se acima do relatado por Almeida (2008) de 157.622,54 em ovelhas da raça Santa Inês; porém situado entre 171.750 e 630.000 células/mL, conforme preconizado por diversos autores para leite de ovelhas (Fthenakis 1994, McDougall et al. 2001, Brito et al. 2006).

Durante a lactação, dependendo da intensidade da reação nas amostras de leite que reagiram ao CMT, os valores da CCS foram semelhantes aos citados por Fthenakis (1995) que observou resultados de  $1,57 \times 10^6$  a  $5,48 \times 10^6$  células/mL, exceto na reação 3+ que ultrapassou esta margem. No entanto, McDougall et al. (2001) relataram valores médios para esta mesma reação de  $8,8 \times 10^6$  células/mL, considerando que a diferença entre estudos possivelmente é devido diferenças na interpretação do CMT.

Ao considerar o limite mínimo de  $1,0 \times 10^6$  células/mL como indicativo de infecção, conforme relatado por Fthenakis (1996), Paape et al. (2007) e Almeida (2008), os resultados obtidos neste estudo foram superiores, com valores médios de 2.133.914,19 células/mL em amostras de leite com reação 1+. Este resultado pode ser atribuído provavelmente à patogenicidade dos agentes etiológicos envolvidos (McDougall et al. 2001)

Diante da diferença estatística ( $P < 0,05$ ) observada na CCS para os diferentes escores do CMT pode-se afirmar que o aumento na contagem, paralelamente à intensidade da reação é desencadeada pela resposta celular oriunda da ação do microrganismo envolvido, ratificando os relatos de Paape et al. (2007), demonstrando que os resultados obtidos no CMT podem ser confiáveis e práticos em animais de aptidão para carne (Almeida 2008).

Das 250 amostras de leite submetidas ao CMT durante a lactação, observou-se crescimento bacteriano em 58 (23,2%). Das amostras reagentes no CMT (1+, 2+, 3+) ( $n=87$ ), observou-se crescimento em 44 (50,58%), enquanto nas não reagentes ( $n=163$ ) verificou-se 14 (8,59%) amostras

bacteriologicamente positivas. À medida que se intensifica a reação no CMT, aumenta a frequência de isolamento (Quadro 4).

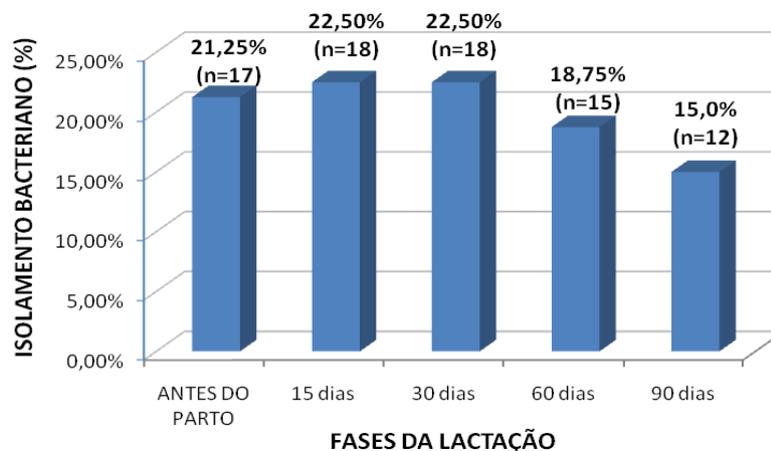
**Quadro 4. Frequência de isolamento bacteriano (%) nas amostras de leite de ovelhas Santa Inês de acordo com a reação na prova do CMT.**

CMT	FASES DA LACTAÇÃO			
	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Não reagente	6,98%	12,82%	9,52%	5,88%
1+	50,0%	45,45%	0%	28,57%
2+	42,86%	50%	40%	66,67%
3+	69,23%	62,5%	100%	83,33%

A quase que total inexistência de achados na inspeção e palpação da glândula mamária de ovelhas, portadoras de mastite subclínica, conforme observado em 83,9% e 93,1% das mamas respectivamente, dificulta o diagnóstico desta forma de mastite, particularmente em rebanhos de corte, que não se tem o hábito de observar a glândula mamária, mesmo quando em fase de lactação (McFarland et al. 2000), ratificando a importância da adoção de métodos indiretos de diagnóstico em virtude da maior prevalência da mastite subclínica nos rebanhos (Nunes et al. 2008).

Alguns autores relataram que a capacidade do CMT em apresentar-se como ferramenta confiável para o diagnóstico da mastite ovina depende da prevalência e dos agentes presentes no rebanho (Nunes et al. 2008). Neste estudo observou-se que à medida que aumenta a intensidade de reação do CMT aumenta o percentual de isolamento do agente envolvido na infecção intramamária, corroborando com resultados de Menzies & Ramanoon (2001) que indicaram este teste de triagem para identificação dos animais acometidos, estando a maior probabilidade de isolamento nas amostras de leite com reações superiores a 1+.

Do total de amostras submetidas ao exame bacteriológico (n=323), observou-se crescimento bacteriano em 80, isoladas ao longo dos momentos de observação (antes do parto e durante a lactação), constatando que a grande maioria dos isolados foram resgatados na fase que precedeu ao parto (21,25%), e na fase inicial da lactação 15dpp e 30dpp, ambos com percentuais de 22,5% (Figura 1).



**Fig. 1.** Percentual de isolamento bacteriano das amostras de leite (n=80) de ovelhas da raça Santa Inês acompanhadas antes do parto e durante a fase da lactação.

Os agentes isolados, em sua totalidade em cultura pura, foram provenientes de 17 amostras de leite colhidas no momento que precedeu ao parto (fase de formação do colostro), 44 de amostras reagentes no CMT, 14 de amostras não reagentes no CMT e cinco de casos clínicos de mastite.

Chama-se atenção para o percentual de isolamento bacteriano de 21,25% (n=17) na fase de formação do colostro, que precedeu ao parto, no qual esperava-se percentuais bem mais inferiores, sendo isolado neste momento em maior percentual os SCN (n=15). Das 17 glândulas em que se obteve crescimento bacteriano do leite antes do parto, verificou-se o re-isolamento dos mesmos agentes logo no momento seguinte (15dpp) em 10 delas. Estes achados corroboram os estudos realizados em vacas por Dingwell et al. (2002) em que 49% das novas infecções diagnosticadas no período seco tiveram como agente etiológico o *Staphylococcus* coagulase-negativo, e por Sandholm & Pyörälä (1995b) que relataram que as infecções por *S. aureus* e SCN ocorridos durante o primeiro mês da lactação geralmente derivam da lactação anterior ou do período seco.

Na fase final da lactação (90 dpp.), podemos verificar que das 12 amostras com crescimento bacteriano, sete foram provenientes de metades mamárias com isolamento em pelo menos outros três momentos anteriores, e destas sete, quatro foram de mamas com isolamento também na fase que precedeu ao parto. A infecção intramamária observada antes do parto, pode manter-se predispondo a glândula mamária à infecções futuras, desde que ocorra queda na imunidade da ovelha, principalmente logo após o parto (Menzies & Ramanoon 2001), bem como na fase final da lactação pelo fato do início do desmame dos borregos (Fthenakis 1994).

A forma clínica da mastite foi diagnosticada em cinco metades mamárias, onde se obteve crescimento bacteriano em 100% das amostras. Das cinco mamas acometidas, três eram de uma mesma ovelha, ou seja, esta foi diagnosticada e tratada no 15<sup>o</sup> dpp, no momento seguinte não apresentou alteração no leite, no entanto nos dois momentos restantes (60<sup>o</sup> e 90<sup>o</sup> dpp), retornaram os sinais da infecção. O agente etiológico mais frequente foi o *Staphylococcus aureus* em 40% dos isolamentos, seguido dos SCN (20%), *Streptococcus* spp. (20%) e *Escherichia coli* (20%). Estes dados ratificam as citações de Lafi et al. (1998), Bergonier & Berthelot (2003) e Oliveira (2007), que observaram o *S. aureus* como o agente mais frequente da mastite clínica em ovelhas. O isolamento de *Staphylococcus* coagulase-negativo também foi relatado por Oliveira (2007), que chama a atenção deste agente considerado de baixa virulência ou não patogênico como causador de mastite clínica em ovelhas Santa Inês. A frequência de isolamento do *Streptococcus* spp. neste estudo corrobora o intervalo citado por Bergonier & Berthelot (2003), cujo valores variam entre 3-26% dos isolados. O isolamento de *E. coli* foi também descrito por Lafi et al. (1998) e Bergonier & Berthelot (2003) em casos clínicos de mastite.

As glândulas diagnosticadas com mastite clínica apresentaram atrofia e fibrose no parênquima mamário acompanhado ou não de aumento de volume e temperatura, corroborando as alterações relatadas por Oliveira (2007), sendo estes achados desencadeados pela reação inflamatória no tecido glandular devido aos subprodutos do crescimento e metabolismo bacteriano (Schalm 1977). Além dos achados clínicos, podemos observar que o comprometimento mamário destas glândulas foi em sua totalidade unilateral e em 80% ocorreram na metade direita, de acordo com Lafi et al. (1998), o maior comprometimento da glândula direita estaria relacionado ao comportamento do animal (ruminar e descansar) que favorece a ocorrência de lesões e contaminação do mesmo.

Nas amostras de leite reagentes no CMT (n=87), verificou-se isolamento em 50,58%. A ausência de crescimento bacteriano nas demais amostras reagentes no CMT pode ser justificada pela eliminação intermitente dos agentes bacterianos (Burriel 1997, Albenzio et al. 2002), pelo não isolamento de microrganismos mais exigentes nos meios de cultura convencionais (Domingues & Leite 2003) como *Mycoplasma* spp. (Anderson et al. 2005) e alguns vírus como o Maedi-visna que raramente acarreta sinais clínicos (Contreras et al. 2007), pela participação de algumas enzimas ou proteínas do leite (lisozina e lactoferrina), que poderiam inibir a detecção dos patógenos (Albenzio et al. 2002) e pela administração prévia de antimicrobianos (Contreras et al. 2007).

O microrganismo isolado em maior percentual dos casos subclínicos foi o *Staphylococcus* coagulase-negativo (65,9%), seguido por *Streptococcus* spp. (15,9%), bactérias Gram negativas (13,65%) e *S. aureus* (4,55%). O percentual de isolamento de SCN de casos subclínicos foi semelhante aos descritos por González-Rodríguez et al. (1995) e Almeida (2008), de 62,5% e 65,09%, respectivamente. Vale salientar o efeito negativo deste agente sobre o tecido glandular, podendo comprometer a composição do leite, conforme relatado por Burriel (1997).

O isolamento de *Streptococcus* spp. apresentou percentual similar aos descritos por Coutinho et al. (2006) e González-Rodríguez et al. (1995), com valores entre 12% e 16,2%, respectivamente. As bactérias Gram-negativas fermentadoras e não fermentadoras foram isoladas em 13,65% das amostras

subclínicas, sendo o agente mais frequente deste grupo de bactérias, a *E. coli*. A presença de enterobactéria no leite de ovelhas com mastite subclínica chama a atenção para a possibilidade destas desencadarem um quadro clínico de mastite, tendo em vista os fatores de virulência inerentes à este agente, aliado à condição de estresse do animal (Sandholm & Pyörälä 1995a), o que torna o isolamento de microrganismos da família Enterobacteriaceae em glândula com ausência de sinais clínicos, um achado incomum (Drescher et al. 2010).

Das 163 amostras de leite que não reagiram ao CMT durante a lactação, foi observado o crescimento bacteriano em 14 (8,59%), cujo isolamento provavelmente esteja relacionado à presença destas bactérias na cisterna do teto de glândulas sadias, podendo considerar como possíveis sítios de origem (Fthenakis 1988), funcionando estes animais como portadores assintomáticos (Burriel 1997). Outra possibilidade foi descrita por Albenzio et al. (2002), ao relatarem que o isolamento pode não ser acompanhado por um aumento na celularidade, pois em muitos casos o processo infeccioso progride lentamente sem expressar um estágio agudo ou tem uma fase aguda de curta duração. O agente isolado em maior percentual foi o SCN (78,57%), seguido do *Streptococcus* spp (14,29%) e *Acinetobacter lwoffii* (7,14%). Várias espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativo são comumente encontradas nos canais do teto e sobre a pele do teto de ruminantes domésticos e podem ser introduzidas na glândula mamária no ato de sucção do cordeiro, sem contudo existir infecção do parênquima mamário (Fthenakis 1988, Batavani et al. 2003).

Os resultados obtidos no teste de susceptibilidade aos antimicrobianos das amostras de *Staphylococcus* coagulase-negativo revelaram de maneira geral que os isolados apresentaram percentual de sensibilidade elevado frente às drogas empregadas (Quadro 5), com valores variando de 64,3% (penicilina G) a 98,2% (cefoxitina). O perfil de sensibilidade antimicrobiana revelou que as cepas de *Staphylococcus aureus* (Quadro 5) apresentaram sensibilidade de 75% diante de oito das 12 drogas testadas e com 100% dos isolados sensíveis à cefoxitina. Dos *Streptococcus* spp. isolados das amostras de leite de ovelhas da raça Santa Inês 72,7% foram sensíveis à ampicilina, cefalotina e cefoxitina, e 63,6% sensíveis à eritromicina. As demais drogas demonstraram percentuais variados de resistência (Quadro 5).

**Quadro 5. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativo e *Streptococcus* spp. isolados do leite de ovelhas da raça Santa Inês.**

Antimicrobianos	<i>S. aureus</i> (n=4)			SCN (n=56)			<i>Streptococcus</i> spp. (n=11)		
	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)
AMP (10 µg)	75	-	25	76,8	-	23,2	72,7	-	27,3
CEP (30 µg)	75	-	25	96,4	-	3,6	72,7	9,1	18,2
FOX (30 µg)	100	-	-	98,2	1,8	-	72,7	18,2	9,1
ERY (15 µg)	-	75	25	14,3	76,8	8,9	63,6	9,1	27,3
STR (10 µg)	-	-	100	42,8	26,8	30,4	-	-	100
GEN (10 µg)	75	25	-	94,6	1,8	3,6	9,1	18,2	72,7
KAN (30 µg)	75	25	-	85,7	8,9	5,4	-	9,1	90,9
NEO (30 µg)	50	50	-	82,1	10,7	7,1	-	9,1	90,9
OXA (1 µg)	75	-	25	87,5	-	12,5	-	-	100
PEN (10 UI)	75	-	25	64,3	-	35,7	36,4	36,4	27,2
SXT (25 µg)	75	25	-	80,4	8,9	10,7	36,4	-	63,6
TCY (30 µg)	75	-	25	82,1	1,8	16,1	-	9,1	90,9

Resultados semelhantes foram também descritos por Fernández Riera et al. (2000) que observaram um alto percentual de sensibilidade antimicrobiana das cepas de *S. aureus* isoladas de mastite clínica e subclínica ovina.

O perfil de sensibilidade dos isolados de SCN frente à gentamicina foram semelhantes aos descritos por Coutinho et al. (2006) e Domingues et al. (2006), que consideram a gentamicina uma das drogas de melhor eficácia. A alta sensibilidade das cepas de *Staphylococcus* spp. frente a maioria das

drogas antimicrobianas, também foi relatada por Almeida (2008). Este achado pode ser justificado pela pouca utilização destas drogas no momento de secagem da ovelha, sendo mais amplamente utilizado no tratamento das mastites clínicas.

Maior resistência às drogas estreptomicina, kanamicina e tetraciclina, também foram relatadas por Almeida (2008) no perfil de sensibilidade dos *Streptococcus* spp., porém com resultados percentuais menores. Divergindo dos resultados deste estudo, Coutinho et al. (2006) evidenciaram a tetraciclina como droga 100% eficiente para as cepas testadas.

As bactérias Gram negativas fermentadoras (Quadro 6) foram sensíveis apenas à cefoxitina (83,3%), ampicilina e sulfazotrim (100%). Os agentes Gram negativos foram os que apresentaram o maior percentual de amostras resistentes com valores entre 50% (neomicina) a 100% (estreptomicina). A alta resistência apresentada por bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, particularmente *E. coli*, vem sendo relatadas por alguns autores após isolarem cepas do leite de vacas resistentes a quatro ou mais drogas. (Ribeiro et al. 1999; Ribeiro et al. 2006).

As bactérias Gram negativas não fermentadoras apresentaram sensibilidade frente a nove drogas testadas, com valores de 66,7% a 100% (cefoxitina e sulfazotrim). O comportamento de sensibilidade das bactérias Gram negativas não fermentadoras foi similar ao descrito por Almeida (2008), porém com valores percentuais menores.

**Quadro 6. Sensibilidade antimicrobiana das bactérias Gram negativas isoladas de leite de ovelhas da raça Santa Inês.**

Antimicrobianos	Gram negativas					
	fermentadoras (n=6)			não fermentadoras (n=3)		
	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)
AMP (10 µg)	100	-	-	66,7	-	33,3
CEP (30 µg)	16,7	-	83,3	66,7	-	33,3
FOX (30 µg)	83,3	16,7	-	100	-	-
ENR (5 µg)	16,7	50	33,3	66,7	33,3	-
STR (10 µg)	-	-	100	33,3	-	66,7
GEN (10 µg)	33,3	-	66,7	66,7	-	33,3
KAN (30 µg)	16,7	-	83,3	66,7	33,3	-
NEO (30 µg)	-	50	50	66,7	33,3	-
SXT (25 µg)	100	-	-	100	-	-
TCY (30 µg)	-	33,3	66,7	66,7	-	33,3

O acompanhamento das ovelhas antes e durante toda a lactação, permitiu-nos concluir que a mastite subclínica representa uma preocupação sanitária na criação de ovelhas Santa Inês, sendo particularmente a fase que precede o parto merecedora de maior atenção tendo em vista o alto percentual de isolamento bacteriano de glândulas aparentemente sadias, aliado à observação, já na fase de lactação, do maior percentual de isolamento ocorrer nos primeiros 30 dias da lactação, ou seja, na fase inicial, sendo o SCN o agente isolado em maior percentual. A contagem de células somáticas foi caracterizada pelo seu aumento nos casos subclínicos sem, entretanto, ser influenciada pelas diferentes fases da lactação. Uma alta sensibilidade antimicrobiana foi verificada para as bactérias Gram positivas frente à ampicilina, cefalotina e cefoxitina e, para as bactérias Gram negativas uma boa sensibilidade frente à ampicilina, cefoxitina e sulfazotrim.

**Agradecimentos.-** Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (MCT/CNPq – Edital Universal-15/2007), pelo apoio financeiro e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da Bolsa de Mestrado (Edital PBPG-13/2008).

## REFERÊNCIAS

- Albenzio M., Taibi L., Muscio A. & Sevi A. 2002. Prevalence and eyiology of suclinical mastitis in intensively managed flock and related changes in the yield and quality of ewe milk. *Small Ruminant Research* 43(3):219-226.
- Alencar L. & Rosa F.R.T. 2006. Ovinos: panorama e mercado. Disponível em: < [http://www.zebus.com.br/berro/noticias\\_ver.php?CdNotici=9](http://www.zebus.com.br/berro/noticias_ver.php?CdNotici=9) >. Acesso em: 25 out. 2010.
- Almeida M.Z.P.R.B. 2008. Estudo da Mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês e sua influência sobre as características físico-químicas do leite. Tese de Doutorado em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. 104p.
- Anderson D.E., Hull B.L. & Pugh D.G. 2005. Enfermidades da glândula mamária, p.379-399. In: Pugh D.G. (Ed.) *Clínica de ovinos e caprinos*. São Paulo:Roca.
- Batavani R.A., Mortaz E., Falahian K. & Dawoodi M.A. 2003. Study on frequency, etiology and some enzymatic actives of subclinical ovine mastitis in Urmia, Iran. *Small Ruminant Research* 50(1-2):45-50.
- Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C. & Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standartized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology* 45(4):493-496.
- Bergonier D. & Berthelot X. 2003. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livestock Production Science* 79(1):1-16.
- Bolsanello R.X., Hartman M., Domingues P.F., Mello Júnior A.S. & Langoni L. 2009. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamáceas submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedades de Botucatu, SP. *Veterinária e Zootecnia* 16(1):221-227.
- Brito M.A., González F.D., Ribeiro L.A., Campos R., Lacerda L., Barbosa P.R. & Bergmann G. 2006. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. *Ciência Rural* 36(3):942-948.
- Burriel A.L. 1997. Dynamics of intramammary infection in the sheep caused by coagulase-negative Staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. *Veterinary Record* 140(16):419-423.
- Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI/NCCLS. 2005. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 26. M 100-S15. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Contreras A., Sierra D., Sánchez A., Corrales J., Marco J., Paape M. & Gonzalo C. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research* 68(1-2):145-153.
- Coutinho D.A., Costa J.N., Ribeiro M.G. & Torres J.A. 2006. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 7(2):139-151.
- Curi P.R. 1997. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. Botucatu:Tipomic. 263p.
- Diffay B.C., McKenzie D., Wolf C. & Pugh D.G. 2004. Abordagem e exame de ovinos e caprinos, p.1-19. In: Pugh D.G. (Ed.), *Clínica de Ovinos e Caprinos*. Roca, São Paulo.
- Dingwell R.T., Duffield T.F., Leslie K.E., Keefe G.P., DesCoteaux L., Kelton D.F., Lissemore K.D., Schukken Y.H., Dick P. & Bagg R. 2002. The efficacy of intramamary Tilmicosin at drying-off, and

other risk factors to the prevention of new intramammary infections during the dry period. *Journal of Dairy Science* 85(12):3250-3259.

- Domingues P.F. & Leite C.A. 2003. Mastite em Ovinos. *Revista O Berro* 74:50-60.
- Domingues P.F., Lucheis S.B., Serrão L.S., Fernandes S., Contente A.P.A., Martins E.C.V. & Langoni H. 2006. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. *Ars Veterinaria* 22(2):146-152.
- Drescher G., Mattiello S.P., Peixoto R.M., Vargas A.C., Maciel M.N. & Costa M.M. 2010. Caracterização bioquímica e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de agentes bacterianos isolados de mastite subclínica ovina na região oeste de Santa Catarina. *Ciência Animal Brasileira* 11(1):188-193.
- Fernández Riera E., Las Herasdel Río A., López Paredes I., Porrero Calonge M. C., Domínguez Rodríguez L., Fernández-Garayzábal Fernández J.F.Y. & Moreno Romo M.A. 2000. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis ovinas. *Patología Animal* 11:381-384.
- Fthenakis G. 1988. Ovine mastitis with special reference to subclinical mastitis associated with coagulase-negative Staphylococci. PhD Thesis, The Royal Veterinary College, University of London, 390 p.
- Fthenakis G.C. 1994. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in ewes of Southern Greece. *Small Ruminant Research* 13(3):293-300.
- Fthenakis G.C. 1995. California Mastitis Test and Whiteside Test in diagnosis of subclinical mastitis of dairy ewes. *Small Ruminant Research* 16(3):271-276.
- Fthenakis G.C. 1996. Somatic cell counts in Milk of Welsh-Mountain, Dorset-Horn and Chios ewes throughout lactation. *Small Ruminant Research* 20(2):155-162.
- González-Rodríguez M.C., Gonzalo C., San Primitivo F. & Carmenes P. 1995. Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 78(12):2753-2759.
- Lafi S.Q., Al-Majali A.M., Roman M.D. & Alawneh J.M. 1998. Epidemiological studies of clinical and subclinical ovine mastitis in Awassi sheep in northern Jordan. *Preventive Veterinary Medicine* 33:171-181.
- McDougall S., Murdough P., Pankey W., Denaney C., Barlow J. & Scruton D. 2001. Relationship among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. *Small Ruminant Research* 40(3):245-254.
- McFarland M., Holcombe D., King D., Allen J. & Redelman D. 2000. Quantification of subclinical mastitis in sheep. Disponível em: < [http://www.cabnr.unr.edu/AB/Resources/Nevada\\_Cattlemen/2001/16.htm](http://www.cabnr.unr.edu/AB/Resources/Nevada_Cattlemen/2001/16.htm) > Acesso em: 24 dez. 2010.
- Menzies P.I. & Ramanoon S.Z. 2001. Mastitis of sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* 17(2):333-358.
- National Mastitis Council. 1990. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection 3ed. Arlington: NMC. 34p.
- Nunes G.R., Blagitz M.G., Freitas C.B., Souza F.N., Ricciardi M., Stricagnolo C.R., Sanches B.G.S., Azedo M.R., Sucupira M.C.A. & Della Libera A.M.M.P. 2008. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite ovina. *Arq. Inst. Biol.* 75(3):271-278.

- Oliveira V.L.M. 2006. Aspectos do leite e mastite em ovinos da raça Santa Inês em Sergipe. Dissertação de Mestrado em Agroecossistemas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE. 70p.
- Oliveira L.G.L. 2007. Estudo clínico-epidemiológico e bacteriológico da mastite em ovelhas da raça Santa Inês no agreste meridional do Estado de Pernambuco. Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. 50p.
- Paape M.J., Wiggans G.R., Bannerman D.D., Thomas D.L., Sanders A.H., Contreras A., Moroni P. & Miller R.H. 2007. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research* 68(1-2):114-125.
- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B. & Carter G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*, Philadelphia: Mosby. 648p.
- Ribeiro M.G., Costa E.O., Langoni H., Ribeiro A.R. & Assis M.Z. 1999. Susceptibilidade e resistência múltipla a antimicrobianos em amostras de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. *Anais 3º Encontro de Pesquisadores em Mastites*, Botucatu, SP, p.170. (Resumo)
- Ribeiro M.G., Costa E.O., Leite D.S., Langoni H., Garino Júnior F., Victória C. & Listoni F.J.P. 2006. Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 58(5):724-731.
- Sandholm M. & Pyörälä S. 1995a. Coliform mastitis, p.149-160. In: Sandholm M., Monhaken-Buzalski T., Kaartinen L. & Pyörälä S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Helsinki.
- Sandholm M. & Pyörälä S. 1995b. Dry cow therapy, p.209-214. In: Sandholm M., Monhaken-Buzalski T., Kaartinen L. & Pyörälä S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Helsinki.
- Santos R.A., Mendonça C.L., Afonso J.A.B. & Simão L.C.V. 2007. Aspectos clínicos e características do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 27(1):6-12.
- Schalm O.W. 1977. Pathologic changes in the milk and udder of cows with mastitis. *Journal of American Veterinary Medical Association* 170(10):1137-1140.
- Schalm O.W., Carroll E.J. & Jain N.C. 1971. *Bovine Mastitis*. Philadelphia: Lea & Febiger, 360p.
- Subcommittee on Screening Tests – National Mastitis Council. 1968. Direct microscopic somatic cell count in milk. *Journal of Milk and Food Technology* 31:350-354.
- Tatarczuch L., Philip C. & Lee C.S. 1997. Involution of the sheep mammary gland. *J. Anatomy* 190:405-416.
- Watkins G.H., Burriel A.R. & Jones J.E. 1991. A field investigation of subclinical mastitis in sheep in southern England. *The British Veterinary Journal* 147(5):413-420.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O acompanhamento das ovelhas Santa Inês, criadas em sistema semi-intensivo, antes e durante toda a lactação, permitiu-nos considerar que:

- A mastite subclínica representa uma preocupação sanitária na criação de ovelhas Santa Inês;
- O alto percentual de isolamento bacteriano na fase que precedeu ao parto e na fase inicial da lactação (15 e 30 dias pós-parto), chama atenção para a implantação de um manejo higiênico-sanitário mais adequado nestes períodos;
- A contagem direta de células somáticas foi caracterizada pelo seu aumento nos casos subclínicos sem, entretanto, ser influenciada pelas diferentes fases da lactação;
- A infecção intramamária acarretou em elevação nos teores de gordura, proteína, cloretos e pH, e redução no teor de lactose, com maior expressividade na fase final da lactação;
- O *Staphylococcus* coagulase-negativo foi o agente bacteriano isolado em maior percentual na fase que precedeu ao parto, bem como, durante a lactação;
- As bactérias Gram positivas apresentaram sensibilidade frente à ampicilina, cefalotina e cefoxitina e, as Gram negativas frente à ampicilina, cefoxitina e sulfazotrim.

## 7. ANEXO (Normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira)

### INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <[jurgen.dobereiner@terra.com.br](mailto:jurgen.dobereiner@terra.com.br)>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras "pesadas"), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia somente os da área de Animais Selvagens serão recebidos para submissão.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

**NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 120,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.**

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) systematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American

Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)). A digitalização deve ser na fonte Helvética, corpo 11, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta "Inserir" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corradamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails de outros autores;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e o ano.)"; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priestler & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão "jpg"), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra "pé". A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para agrupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomendo, se possível, com "a" em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.